

# PUFAs n-3, PUFAs n-6 e steatosi non-alcolica: eziopatogenesi e trattamento terapeutico

*Carmen Laurino<sup>1,2</sup>, Beniamino Palmieri<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Dipartimento Chirurgico, Medico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche con Interesse Trapiantologico, Oncologico e di Medicina Rigenerativa, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia; <sup>2</sup>Poliambulatorio del Secondo Parere, Modena, Italia

«PUFAs n-3, PUFAs n-6 AND NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE: PATHOGENESIS AND THERAPEUTICAL APPROACH»

**Summary.** Fatty acids are structural molecules of vegetable and animal lipids. Among this class our attention has been focused upon, omega 3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs n-3) (Eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) and omega 6 polyunsaturated fatty acids (PUFAs n-6). They are synthesized by human cells only in small amounts, and an adequate nutritional intake is required. Fatty fishes, fish and vegetable oils are the most important sources of these compounds, but also some seaweeds supply PUFAs n-3. Omega 3 have recently been addressed to prevention and management of and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), specifically induced to obesity, insulin resistance, and high sugar and high saturated fatty acids diets. The current review analyzes an update of clinical studies of PUFAs n-3 and PUFAs n-6 administration in NAFLD patients. In comparison we have reviewed the main NAFLD management behavioral strategies such as body weight reduction, diet modifications, supplementation and drugs therapy.

**Key words:** Polyunsaturated fatty acids n-3, polyunsaturated fatty acids n-6, steatosis, etiopathogenesis, therapy

**Riassunto.** Gli acidi grassi sono molecole costitutive dei lipidi complessi e dei grassi vegetali ed animali. Dal punto di vista alimentare e clinico rivestono notevole importanza gli acidi grassi polinsaturi (PUFAs) della serie omega 3 (PUFAs n-3) ed omega 6 (PUFAs n-6). Tra questi l'acido eicosapentaenoico (EPA) e l'acido docosaesanoico (DHA) della serie omega 3 possono essere sintetizzati solo in piccole quantità dall'organismo umano e devono essere necessariamente introdotti con l'alimentazione. Gli alimenti di origine naturale maggiormente ricchi di tali acidi grassi sono rappresentati dai pesci grassi, dagli oli di pesci e dagli oli vegetali; tuttavia anche alcune specie di alghe rappresentano una fonte di omega 3. PUFAs n-3 sono associati alla prevenzione ed alla cura della steatosi epatica non alcolica (NAFLD), una patologia del fegato correlata con l'obesità, la resistenza insulinica e con una dieta ricca di acidi grassi saturi e zuccheri. Tale review analizza gli effetti terapeutici degli acidi grassi omega 3 nel trattamento della NAFLD. Inoltre, in tale contesto, gli effetti degli acidi grassi omega 6 sono altresì indagati. Infine, vengono discorse le principali strategie di trattamento della steatosi epatica, tra cui la riduzione del peso corporeo, la modifica delle abitudini alimentari, l'uso di integratori alimentari ed il trattamento farmacologico.

**Parole chiave:** Omega 3, Omega 6, steatosi, eziopatogenesi, terapia

Gli autori hanno contribuito in equa misura alla stesura del manoscritto.

## Introduzione

Gli acidi grassi sono acidi monocarbossilici alifatici aciclici contraddistinti da legami saturi ed insaturi. Sono molecole costitutive dei lipidi complessi e dei

grassi vegetali ed animali. Sono classificabili a seconda del numero di atomi di carbonio (a catena corta, media, lunga) e della presenza/assenza di doppi legami. In Tabella 1 sono riassunti i principali acidi grassi presenti in natura.

**Tabella 1.** Principali acidi grassi presenti in natura.

N atomi carbonio: N doppi legami	Nome comune	Nome IUPAC	Fonti
4:0	Acido butirrico	Acido butanoico	Latte
5:0	Acido valerico (valerianico)	Acido pentanoico	Radice di valeriana
6:0	Acido caproico	Acido esanoico	Latte
7:0	Acido enantico	Acido eptanoico	Vite
8:0	Acido caprilico	Acido ottanoico	Latte, cocco
9:0	Acido pelargonico	Acido nonanoico	Olio di geranio
10:0	Acido caprinico	Acido decanoico	Grassi animali e vegetali
11:0	-	Acido undecanoico	-
12:0	Acido laurico	Acido dodecanoico	Grassi animali e vegetali
13:0	-	Acido tridecanoico	-
14:0	Acido miristico	Acido tetradecanoico	Latte, oli di pesce, grassi animali e vegetali
15:0	-	Acido pentadecanoico	-
16:0	Acido palmitico	Acido esadecanoico	Grassi animali e vegetale
17:0	Acido margarico	Acido eptadecanoico	Grassi animali e vegetali
18:0	Acido stearico	Acido ottadecanoico	Grassi animali e vegetali
19:0	-	Acido nonadecanoico	-
20:0	Acido arachico	Acido eicosanoico	Semi vegetali e grassi animali
22:0	Acido beenico	Acido docosanoico	Semi vegetali e grassi animali
24:0	Acido lignocerico	Acido tetracosanoico	Grassi vegetali, componente della sfingomielina
26:0	Acido cerotico	Acido esacosanoico	Cera d'api, cera carnauba e grasso della lana
28:0	Acido montanico	Acido ottacosanoico	Cere animali e vegetali
30:0	Acido melissico	Acido triacontanoico	Cere animali e vegetali
32:0	Acido lacerico	acido dotriacontanoico	-
16:1	Acido palmitoleico	acido cis-9-esadecenoico	grassi del latte, grassi di riserva degli animali, oli di pesce, grassi vegetali
18:1	Acido oleico	acido cis-9-ottadecenoico	olio di oliva, in tutti i grassi naturali
20:1	Acido gadoleico	acido cis-9-eicosenoico	Olio di colza
22:1	Acido cetoleico	acido cis-11-docosenoico	Oli vegetali
22:1	Acido erucico	acido cis-13-docosenoico	Olio di colza
24:1	Acido nervonico	acido cis-15-tetracosenoico	-
18:2 PUFAs n-6	Acido linoleico (LA)	acido 9,12-ottadecadienoico	Olio di girasole
18:3 PUFAs N-6 ( ); PUFAs n-3 ( )	Acido linolenico (ALA)	acido 9,12,15-ottadecatrienoico	pesce ricco di grassi, oli vegetali
18:4	Acido stearidonico	acido 6,9,12,15-ottadecatetraenoico	semi di canapa, olio di semi di ribes nero
20:4 PUFAs n-6	Acido arachidonico (ARA)	acido 5,8,11,14-eicosatetraenoico	grassi animali, oli di pesce
20:5 PUFAs n-3	Acido timnodonico (EPA)	acido 5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	Olio di pesce
22:5 PUFAs n-3	Acido clupanodonico (DPA)	acido 7,10,13,16,19-docosapentaenoico	Oli di pesce
22:6 PUFAs n-3	Acido cervonico (DHA)	acido 4,7,10,13,16,19-docosaesaenoico	Oli di pesce

*Acidi grassi omega 3 (PUFAs n-3) ed acidi grassi omega 6 (PUFAs n-6)*

Dal punto di vista alimentare e clinico rivestono notevole importanza gli acidi grassi polinsaturi (PUFAs) della serie omega 3 (PUFAs n-3) ed omega 6 (PUFAs n-6). Il nome di tali composti deriva dalla posizione del primo doppio legame a partire dal carbonio terminale. PUFAs ed i relativi metaboliti svolgono diversi ruoli fisiologici nell'organismo umano, tra cui la fornitura di potere energetico, la strutturazione delle membrane cellulari, dove ne regolano la elasticità ed il funzionamento, la regolazione genica e il signalling cellulare ed infine la partecipazione al meccanismo di perossidazione lipidica (1). I principali acidi grassi della serie omega 3 sono: l'acido  $\alpha$ -linolenico (18:3; ALA), l'acido eicosapentaenoico (20:5; EPA) e l'acido docosaesaenoico (22:6; DHA); mentre i principali acidi grassi della serie omega 6 sono: l'acido linoleico (18:2; LA), l'acido  $\gamma$ -linolenico (18:3) e l'acido arachidonico (20:4 ARA). EPA e DHA sono detti acidi grassi essenziali in quanto possono essere sintetizzati dall'organismo umano a partire dall'ALA, ma solamente in piccole quantità, per cui risulta essere importante la loro assunzione attraverso l'alimentazione. Inoltre, le concentrazioni di PUFAs sono influenzate dai livelli della vitamina B6: una deficienza di tale vitamina è correlata con un livello inferiore di PUFAs n-6 e ad un rapporto più basso di PUFAs n-6/PUFAs n-3 (2).

EPA e DHA sono stati associati con la prevenzione di malattie croniche non trasmissibili, tra cui

l'artrite reumatoide, l'obesità, il diabete mellito, patologie cardiovascolari e neurodegenerative, asma, sindrome del colon irritabile, cancro, patologie renali e danno cardiaco ed epatico conseguente ad episodi ischemici (3). Nel 2004 la Food and Drug Administration (FDA) ha promosso le proprietà benefiche di PUFAs n-3 (EPA + DHA). Una raccomandazione simile è stata inoltre formulata dall'American Heart Association (AHA), la quale ha suggerito il consumo di 1 g/die di EPA + DHA nei pazienti con malattie cardiovascolari, ed un consumo più elevato di 2-4 g/die in soggetti con ipertrigliceridemia (4). In Tabella 2 sono riportati i valori medi di EPA e DHA in carni e pesci solitamente consumati. I pesci (trota, salmone marinato, salmone fresco, sardine, salmone e tonno in scatola; 3430-164 mg/porzione) sono tra gli alimenti di origine animale a maggior contenuto di PUFAs n-3; di contro le carni (macinato di vitello, fesa di agnello, vitello magro e lombo di maiale; 172,5-6 mg/porzione) sono costituite da livelli inferiori di PUFAs n-3. In Tabella 3, invece, vengono riportati i valori di LA, ALA, ARA, EPA, DPA, e DHA espressi in mg/100g di alimento per quanto riguarda i principali alimenti di origine animale.

Bjermo H et al. (7) in uno studio randomizzato controllato hanno confrontato gli effetti di una alimentazione ricca in PUFAs n-6 (soprattutto LA, il quale costituiva il 15% dell'apporto calorico giornaliero) a base di focacce (ricche in olio di girasole), margarina, olio di girasole e semi di girasole e di una alimentazio-

**Tabella 2.** Valori medi (mg) di EPA e DHA per porzione (g) di carne e pesce. Modificato da (5).

Alimento	Porzione (g)	EPA (mg)	DHA (mg)	EPA + DHA (mg)
<b>PESCE</b>				
Salmone atlantico fresco	145	945	1035	1980
Trota	150	1210	2200	3430
Salmone in scatola	95	114	233	347
Tonno in scatola	95	17	148	164
Sardine in scatola	110	750	1120	1880
Salmone atlantico marinato	145	1300	1530	2830
<b>CARNE</b>				
Filetto di vitello magro	125	30	5	35
Fesa di agnello magro	125	23,8	13	36,8
Salumi	50	-	-	-
Macinato di vitello, 10% di grasso	150	141	31,5	172,5
Lombo di maiale	140	0	6	6

**Tabella 3.** Valori medi (mg/100g) di LA, ALA, ARA, EPA, DPA e DHA nei principali alimenti di origine animale. Modificato da (6).

Alimento	LA ( $\omega 6$ )	ALA ( $\omega 3$ )	ARA ( $\omega 6$ )	EPA ( $\omega 3$ )	DPA ( $\omega 3$ )	DHA ( $\omega 3$ )
Latte intero	70	40	-	-	-	-
Carne di bovino	620	240	50	10	-	60
Carne di suino	1460	110	90	-	-	-
Pancetta	6263	740	8	-	-	-
Carne di pollo	2830	130	100	10	10	30
Carne di tacchino	1,640	0,100	0,120	-	0,020	0,020
Burro	1,830	1,180	-	-	-	-
Uova	1140	30	140	4	-	30
Margarina	24300	1100	-	-	-	-
Grasso	11400	600	-	-	-	-
Lardo	10200	1000	-	-	-	-

ne ricca in acidi grassi saturi (burro), per 10 settimane in 67 soggetti con obesità (circonferenza vita: > 88 cm - F -; > 102 cm - M e diametro sagittale dell'addome > 25 cm). I risultati hanno rivelato un aumento del rapporto PUFAs n-6/PUFAs n-3 di 10 volte (da 4 a 14), una riduzione del grasso epatico (in assenza di perdita di peso) maggiore nei soggetti che hanno seguito la dieta ricca in PUFAs n-6 (0,9%) rispetto ai soggetti che hanno seguito l'alimentazione ricca in acidi grassi saturi (0,3%). Nessun effetto infiammatorio è stato rilevato nei soggetti che hanno seguito la dieta ricca in PUFAs n-6, riportando invece una riduzione dei marcatori plasmatici pro-infiammatori (TNF-R2 e IL-1RA). Un aumento delle concentrazioni di insulina è stato ottenuto con entrambe le diete (P= 0,06). Pertanto tali risultati non hanno supportato la ipotesi secondo cui elevate concentrazioni di PUFAs n-6 sono responsabili di azioni flogogene e potenziali fattori di rischio di patologie del metabolismo epatico dei lipidi.

Le principali fonti di PUFAs n-3 sono gli oli di pesce e gli oli vegetali. Una fonte alternativa è costituita dalle macroalghe marine, le quali sebbene possiedano un basso quantitativo lipidico, sono comunque una sorgente di PUFAs (8). Pereira H et al. (8) hanno evidenziato le concentrazioni dei principali PUFAs, espresse in %, all'interno di alcune specie di alghe: *Codium* sp. e *Codium fragile* (ordine Bryopsidales); *Cladophora albidata* e *Chaetomorpha* sp. (ordine Cladophorales); *Enteromorpha* sp. e *Ulva* sp. (ordine Ulvales). *Arthrospira platensis* o *Spirulina platensis*, un'alga azzurra appartene-

nente alla classe Cyanobacteria, è anch'essa una fonte di PUFAs, ricca di LA (17,89%), ALA (18,32%) e acido palmitico (40,16%) (9) (Tab. 4).

Botelho PB et al. (4) hanno analizzato il profilo della composizione in acidi grassi di olio di pesce, olio di alghe ed olio di Echium, mediante gas cromatografia. I risultati, sono mostrati in Tabella 5. Dai dati si evince che tra i tre prodotti, l'olio di Echium, un genere di piante della famiglia Boraginaceae, contiene una % maggiore di PUFAs n-6 (40,63%) rispetto all'olio di pesce e di alghe (3,01% e 1,17% rispettivamente), mentre la composizione in PUFAs n-3 è piuttosto omogenea nei tre prodotti (olio di Echium: 37,88%; olio di pesce: 37,64%; olio di alghe 43,27%). Il rapporto PUFAs n-6/PUFAs n-3 è anch'esso abbastanza uniforme: (1,07 olio di Echium; 0,03: olio di alghe; 0,08 olio di Echium).

### PUFAs e metabolismo epatico dei lipidi

La integrazione alimentare con PUFAs è in grado di influenzare il metabolismo lipidico nel tessuto epatico attraverso la regolazione di specifici geni che intervengono nella lipogenesi (10). In particolare, è stato riportato che PUFAs n-3 sono in grado di limitare la deposizione di trigliceridi (TG) nel fegato, mentre un elevato consumo di PUFAs n-6 favorirebbe l'instaurarsi di meccanismi eziopatogenetici a livello del tessuto epatico (10).

**Tabella 4.** Valori % dei principali PUFAs n-3 e PUFAs n-6 in alghe marine dell'ordine Bryopsidales (*Codium* sp. e *Codium fragile*), dell'ordine Cladophorales (*Cladophora albida* e *Chaetomorpha* sp.), dell'ordine Ulvales (*Enteromorpha* sp. e *Ulva* sp.) e *Spirulina platensis*. Modificato da (8, 9).

Acido linoleico (18:2; $\omega$ 6)	12,23	9,21	15,54	10,04	24,55	5,65	17,89
Acido $\alpha$ -linolenico (18:3; $\omega$ 3)	-	-	-	-	-	16,51	18,32
Acido $\gamma$ -linolenico (18:3; $\omega$ 6)	3,45	-	-	-	-	-	-
Acido arachidonico (20:4; $\omega$ 6)	6,03	3,41	1,37	2,76	-	-	-
Acido eicosapentaenoico (20:5; $\omega$ 3)	1,40	1,48	2,02	3,52	0,85	-	-
Acido docosaesaenoico (22:6; $\omega$ 3)	-	-	0,86	-	-	-	-
PUFAs n-3	9,52	7,40	2,88	4,02	0,85	18,00	-
PUFAs N-6	25,61	14,93	19,36	13,62	26,72	5,65	-

**Tabella 5.** Valori % dei principali acidi grassi, saturi, monoinsaturi e polinsaturi rilevati mediante gas cromatografia in olio di pesce, olio di alghe e olio di Echium.

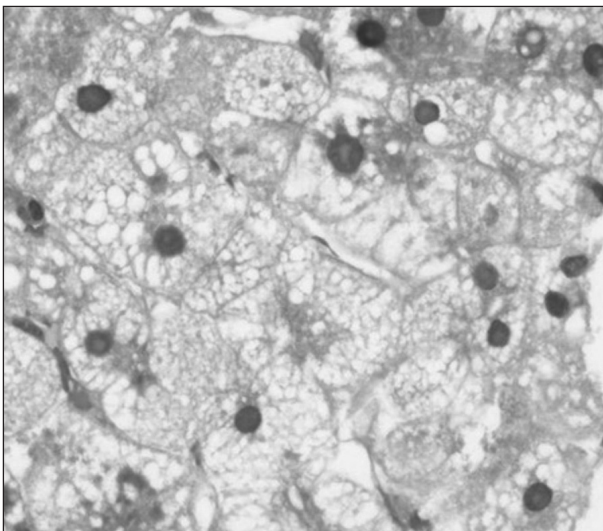
Acidi grassi (g/100 g totali)	Olio di pesce (%)	Olio di alghe (%)	Olio di Echium (%)
10:0 – acido caprinico	-	1,12	-
12:0 – acido laurico	-	4,92	-
14:0 – acido miristico	7,93	10,19	-
16:0 – acido palmitico	17,05	6,97	5,15
18:0 – acido stearico	3,05	0,92	2,57
16:1 – acido palmitoleico	9,76	2,82	-
18:1 – acido oleico (n-9)	13,20	27,48	12,77
18:2 – acido linoleico (n-6)	1,19	1,17	27,52
18:3 – (ALA) acido $\alpha$ -linolenico (n-3)	0,68	-	26,75
18:3 – acido $\gamma$ -linolenico (n-6)	-	-	13,11
18:4 – acido stearidonico (n-3)	3,28	-	11,13
20:4 – (ARA) acido arachidonico (n-6)	1,82	-	-
20:5 – (EPA) acido eicosapentaenoico (n-3)	19,97	-	-
22:5 – acido docosapentaenoico (n-3)	2,20	0,38	-
22:6 – (DHA) acido docosaesaenoico (n-3)	11,51	42,89	-
Acidi grassi saturi tot	28,03	24,12	7,72
Acidi grassi monoinsaturi tot	22,96	30,30	12,77
PUFAs tot	40,65	44,44	78,51
PUFAs n-6	3,01	1,17	40,63
PUFAs n-3	37,64	43,27	37,88
PUFAs n-6/PUFAs n-3	0,08	0,03	1,07

### Eziopatogenesi di NAFLD

La steatosi non alcolica (o fegato grasso), in inglese non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) è una patologia cellulare legata all'accumulo intracellulare di TG a livello del tessuto epatico, la quale può evolvere in steatoepatite non alcolica (non-alcoholic steatohe-

patitis; NASH), in cirrosi ed in carcinoma epatocellulare. I fattori di rischio più importanti sono l'obesità e la resistenza insulinica (IR), ma anche disordini nelle abitudini alimentari e nello stile di vita sono rilevanti (11). Tali condizioni promuovono la sintesi di acidi grassi a partire dal glucosio (GLU) e ne inibiscono la  $\beta$ -ossidazione. Di conseguenza, l'eccesso di acidi grassi

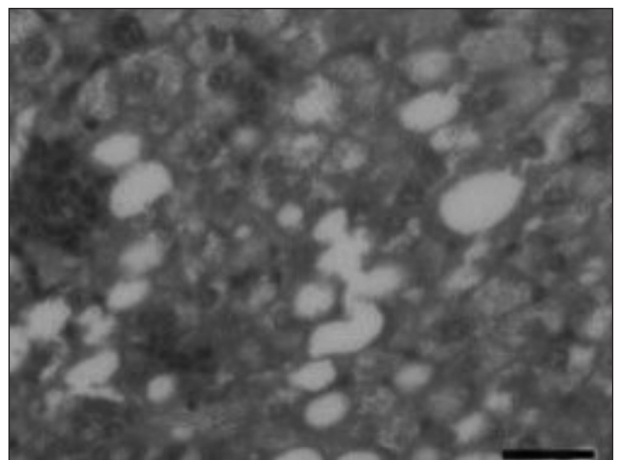
determina la sintesi di TG, i quali si accumulano nel tessuto epatico (12). Non solo, anche l'infezione da parte di virus dell'epatite B (HBV) e virus di epatite c (HCV) rappresentano fattori di rischio per lo sviluppo di NAFLD (13). Infine la sindrome metabolica viene associata al rischio di sviluppare di NAFLD (14). L'attivazione di fattori di trascrizione, tra cui sterol regulatory element binding protein 1c (SREBP- 1c), peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) e carbohydrate responsive element-binding protein (ChREBP), promuovono l'espressione di geni coinvolti nella lipogenesi (15). L'incidenza di tale patologia nei paesi sviluppati è del 20-30%. La NAFLD può essere di due tipi: microvescicolare e macrovescicolare. La steatosi microvescicolare o microsteatosi (Fig. 1) è caratterizzata dalla presenza di gocce lipidiche multiple di dimensioni  $< 1 \mu\text{m}$  che riempiono il citoplasma degli epatociti, il cui nucleo rimane nel centro della cellula. Le cellule, in tale condizione, assumono un aspetto schiumoso; mentre nella steatosi macrovescicolare o macrosteatosi (Fig. 2) sono presenti uno o pochi vacuoli lipidici, i quali confinano il nucleo alla periferia della cellula (11). La macrosteatosi è correlata ad un accumulo di TG nel fegato i quali sono costituiti da piccole quantità di PUFAs n-3, ed un elevato rapporto PUFAs n-6/PUFAs n-3, mentre la microsteatosi è solitamente connessa ad una disfunzione della attività  $\beta$ -ossidante degli acidi grassi da parte del comples-



**Figure 1.** Ematossilina-eosina di fegato con microsteatosi. Modificato da (18).

so mitocondriale (16). E' stato inoltre riportato che la macrosteatosi è associata a rapporti PUFAs n-6/PUFAs n-3 più elevati (9:1), mentre nella microsteatosi tale rapporto è più basso (4:1) (17).

Gli elevati livelli di TG e acidi grassi intraepatici sono associati alla produzione di radicali liberi, causa di perossidazione lipidica e produzione di citochine pro-infiammatorie (12). In particolare, lo stress ossidativo che ne deriva può essere considerato il risultato di uno squilibrio tra fattori pro- e anti-ossidanti. Infatti, l'eccesso di TG intraepatici è responsabile di elevati livelli della  $\beta$ -ossidazione mitocondriale, da cui la esaltata produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), come il radicale superossido ( $\text{O}_2^-$ ) ed il perossido di idrogeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (12). Tali molecole reattive sono in grado di inattivare il meccanismo di apoptosi cellulare mediato dalle caspasi, e promuovere la necrosi. Inoltre, un aumento dei fattori anti-ossidanti, viene associato ad una riduzione del potenziale anti-ossidante (attività della superossido dismutasi – SOD e del contenuto di glutazione) (12). Tale condizione determina la attivazione di fattori di trascrizione, tra cui sterol regulatory element binding protein 1c (SREBP- 1c), peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) e carbohydrate responsive element-binding protein (ChREBP), i quali sono in gradi di promuovere l'espressione di geni coinvolti nella lipogenesi (15). Altri fattori coinvolti nel meccanismo eziopatogenetico della NAFLD coinvolgono le citochine pro-infiammatorie (IL-6 e TNF- $\alpha$ ), e la riduzione della produzione



**Figure 2.** Ematossilina-eosina di fegato con macrosteatosi. Modificato da (19).

di adiponectina, un potente anti-infiammatorio (20), (21). L'infiammazione è un processo che determina il danneggiamento del tessuto e la deposizione di matrice extracellulare e fibrosi nel fegato (22) (Fig. 3). Nei pazienti steatosici, gli adipociti disregolati, non sono in grado di secernere correttamente l'ormone adiponectina, la quale promuove l'ossidazione degli acidi grassi nei muscoli, ne riduce l'apporto al fegato e il contenuto di trigliceridi e diminuisce la produzione di glucosio a livello epatico. Di conseguenza, una ridotta produzione di questo ormone è correlata ad un aumento di TG nel tessuto epatico. I livelli sanguigni di adiponectina, infatti, sono inversamente correlati con la quantità di grasso corporeo viscerale. Gli adipociti inoltre producono l'ormone leptina, coinvolto nel promuovere il senso di sazietà. Nei pazienti steatosici la sintesi di questo ormone è ridotta, verificandosi un aumento del senso della fame ed una associazione tra NAFLD ed obesità (23). L'aumentata produzione di citochine proinfiammatorie, tra cui il TNF- $\alpha$ , avviene nelle cellule di Kupffer, dove si verifica un aumento della produzione di ROS in seguito ad un incremento della perossidazione dei lipidi accumulati (24).

Una alimentazione ricca di zuccheri (es. bevande zuccherate analcoliche) e di acidi grassi saturi determina le condizioni necessarie allo sviluppo di steatosi epatica, attraverso una modificazione della espressione genica. Il Cyp7a1, complesso proteico coinvolto nel metabolismo lipidico, viene inibito da elevati livelli di GLU e di grassi, determinando l'accumulo di colesterolo nel fegato e predisponendo alla condizione del fegato grasso (25).

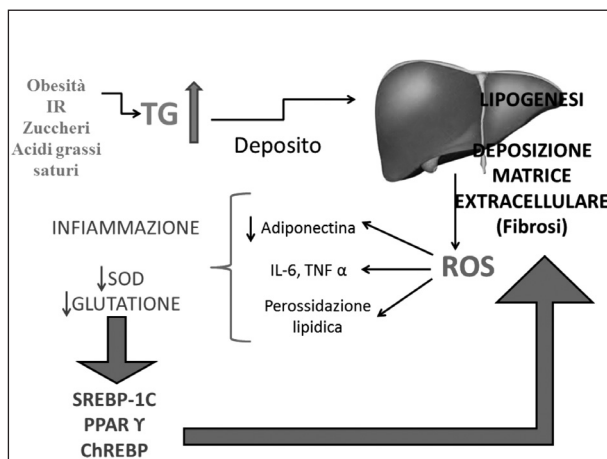


Figure 3. Meccanismo eziopatogenetico della NAFLD.

Pazienti steatosici seguono una dieta ricca in acidi grassi saturi e PUFAs n-6 e di contro, hanno un basso apporto in PUFAs n-3 (26). Araya J et al. (27) hanno descritto in un gruppo di 19 pazienti steatosici - rispetto ad un gruppo di controllo, sano, - un maggiore Body Mass Index (BMI) ( $P < 0,005$ ), un più elevato homeostatic model assessment (HOMA;  $P < 0,005$ ), una maggiore concentrazione di TG epatici ( $P < 0,005$ ), ma un ridotto quantitativo totale di PUFAs (42%). In particolare è stata osservata una riduzione del 32% in PUFAs n-3 e del 76% in PUFAs n-6 rispetto al gruppo di controllo. La sostituzione dell'intake di PUFAs n-6 con ALA (PUFAs n-3) produce un miglioramento dei valori di IR (28).

In tale contesto si inserirebbero le proprietà epato-protettive dei PUFAs n-3, i quali essendo acidi grassi essenziali, non possono essere sintetizzati e sono introdotti con l'alimentazione (tonno, salmone, sgombro, olio di pesce, semi di lino, etc.). In particolare EPA e DHA sono in grado di down-regolare i fattori di trascrizione SREBP-1c, PPAR e ChREBP, controllando in tal modo la lipogenesi (29). In modo più dettagliato, PUFAs n-3 sono in grado di up-regolare i geni coinvolti nella ossidazione degli acidi grassi, e di down-regolare i geni pro-infiammatori (IL-6 e TNF- $\alpha$ ) espressi dalle cellule macrofagiche di Kupfer nel tessuto epatico (30). Inoltre, i livelli plasmatici di tali citochine sono correlati positivamente con il grado del danno epatico (31). PUFAs n-3 sono altresì in grado di stimolare i macrofagi a produrre IL-10, una citochina anti-infiammatoria, coinvolta nella regolazione del processo flogistico (31). EPA + DHA sono associati ad una riduzione della produzione di trombosano A2 (TXA2), un potente aggregante piastrinico e promotore della vasocostrizione, e del leucotriene B4 (LTB4), un modulatore del processo flogistico e della chemiotassi (16).

Le proprietà modulanti del metabolismo lipidico sono state altresì indagate tramite studio controllato in doppio cieco da O'Sullivan A et al. in 41 soggetti sani, i quali hanno ricevuto una integrazione giornaliera di 2 g di EPA + 1 g di DHA per 6 settimane (32). La loro alimentazione, inoltre, è stata monitorata mediante *Food Frequency Questionnaire*. Gli autori hanno riscontrato una correlazione positiva tra EPA e consumo giornaliero di verdura a foglia verde ed i loro nutrienti

associati, tra cui vitamina K, folato, luteina/zeaxantina e vitamina B6, ipotizzando la modulazione del microbiota intestinale da parte dei PUFAs n-3.

### **Trattamento terapeutico della NAFLD con PUFAs n-3: studi clinici**

Diversi studi sono stati condotti per valutare l'efficacia del trattamento di NAFLD con PUFAs n-3 (Tab. 6). Gli acidi grassi polinsaturi della serie omega 3 sono stati somministrati sia come integratori che attraverso alimenti nutrizionali specifici. Capanni M et al. (33) in uno studio randomizzato controllato hanno valutato in 56 pazienti affetti da NAFLD, la integrazione con 1 g/die di PUFAs n-3 per 12 mesi. In particolare, 42 soggetti hanno ricevuto il trattamento, mentre 14 sono serviti da controllo. Al termine del periodo di osservazione sono stati riportati un significativo miglioramento del fegato grasso ( $P=0,0001$ ) - valutato con metodo ultrasonografico - rispetto ai controlli, ed una correlazione positiva significativa tra la integrazione e la riduzione delle transaminasi epatiche ( $P=0,003$ ), di GLU libero ( $P=0,02$ ) e TG ( $P=0,02$ ). Spadaro L et al. (34) hanno riscontrato in un gruppo di 40 pazienti affetti da NAFLD, una significativa riduzione del fegato grasso del 33,4% dei valori di alanina aminotransferasi (ALT -  $P < 0,01$ ), dei TG ( $P < 0,01$ ), del TNF- $\alpha$  ( $P < 0,05$ ), della IR ( $P < 0,05$ ) - valutati con metodo HOMA -, dopo aver assunto 2 g/die di PUFAs n-3 per 6 mesi, rispetto al gruppo di controllo non trattato (studio randomizzato controllato). Zhu FS et al. (35) hanno somministrato a 144 pazienti affetti da NAFLD e iperlipidemia mista 2 g di olio di foga (ricco in EPA, DHA e DPA) 3 volte/die per 24 settimane (studio randomizzato controllato). Alla fine del trattamento è stato riportato una significativa riduzione delle transaminasi (ALT -  $P < 0,01$ ), dei livelli di lipidi plasmatici ( $P < 0,01$ ), della sintomatologia (dolore epatico, debolezza, distensione addominale e nausea -  $P < 0,01$ ) ed un miglioramento del 53,03% del fegato grasso apprezzabile con metodo ultrasonografico. Sofi F et al. (36) hanno invece somministrato 5 ml/die di olio di oliva per un anno in 6 pazienti steatosici, mentre 5 soggetti hanno funto da controllo (studio randomizzato controllato). Un significativo miglioramento è stato osservato alla fine del trattamento per

quanto riguarda i livelli di transaminasi epatiche ( $P=0,04$ ), di TG ( $P=0,04$ ), di adiponectina ( $P=0,04$ ) e della costituzione del fegato grasso ( $P < 0,05$ ). Tanaka N et al. (37) in uno studio randomizzato non controllato hanno valutato la integrazione con 2,7 g/die di EPA per 12 mesi in un gruppo di 23 pazienti affetti da NASH, riscontrando alla fine del trattamento un significativo miglioramento dell'aspetto ossidativo, del fegato grasso, della infiammazione e della fibrosi epatica. Nobili V et al. (38) hanno somministrato 250 mg/die di DHA per 6 mesi in 60 pazienti steatosici ottenendo alla fine del trattamento un miglioramento dell'andamento della patologia, ma nessun cambiamento significativo dei livelli di transaminasi epatiche, dei TG e della IR (studio in doppio cieco randomizzato controllato). Vega GL et al. (39) hanno valutato l'efficacia di una integrazione di 9 g/die di olio di pesce per 8 settimane in 22 pazienti steatosici, ottenendo una riduzione del 46% della trigliceridemia ( $P < 0,03$ ), del 21% della colesterolemia ( $P < 0,03$ ) e del 15% della apolipoproteina B ( $P < 0,03$ ). Nessun miglioramento dei TG epatici è stato osservato (studio randomizzato controllato). Dasarathy S et al. (40) hanno verificato in 37 pazienti con NASH che un trattamento per 48 settimane con PUFAs n-3 (EPA: 2160 mg e DHA: 1440 mg) non produce alcun beneficio rispetto ad un trattamento con analogo quantitativo calorico di olio di mais (gruppo placebo). Nello specifico, alla fine del periodo di osservazione non si è verificata alcuna variazione dei livelli delle transaminasi epatiche; si è osservato un leggero miglioramento ( $P < 0,05$ ) dell'andamento della patologia nel gruppo trattato, mentre nel gruppo placebo si è osservato un peggioramento ( $P < 0,001$ ) della infiammazione lobulare. I valori della IR peggiorano con i PUFAs n-3, mentre rimangono invariati nel gruppo di controllo (studio in doppio cieco randomizzato controllato). In un recente studio St-Jules DE et al. (3) hanno dimostrato che una dieta carente di pesce e di PUFAs n-3 rende più suscettibili a sviluppare infiammazione epatica. 223 bambini di età compresa tra 6-18 anni affetti da steatosi epatica sono stati seguiti nella loro alimentazione, monitorando e stimando il consumo di pesce e di PUFAs n-3 mediante un Block Brief 2000 Food Frequency Questionnaire. I risultati hanno riportato che solo il 10% del campione (22/223 soggetti) consumava il dosaggio settimanale consigliato di pesce (8 onces), mentre solo



**Tabella 6.** Studi clinici comprovanti le proprietà terapeutiche di alimenti ricchi di PUFAs n-3 nel trattamento della NAFLD.

Patologia	Somministrazione	Gruppo clinico	Studio clinico	Effetto	Bibliografia
Patologie epatiche	2,472 mg/die di L-carnitina per 12 mesi	119 pazienti	Studio aperto multicentrico	Normalizzazione dell'85,7% dei valori ALT (P < 0,0001)	(46)
Sovrappeso	4 g/die di L-carnitina per 30 giorni	84 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato controllato	Riduzione della massa grassa (-3,1 Kg); aumento della massa muscolare (+2,1 Kg); riduzione del colesterolo totale (-1,2 mmol/L); riduzione del colesterolo LDL (-1,1 mmol/L); riduzione dei TG (-0,3 mmol/L); aumento del colesterolo HDL (+0,2 mmol/L) (P < 0,001)	(47)
Sovrappeso	CBFI (L-carnitina + capsacinoidi + epigallocatechin gallato + piperina) per 8 settimane	37 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato controllato	Aumento della sazietà	(48)
Dislipidemia	3 cp/die L-carnitina 250 mg, per 8 settimane	30 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato controllato	Riduzione del colesterolo totale (190 + 36,8 vs 177 + 31,2 mg/dL); riduzione TG (210 + 64,7 vs 190 + 54,1 mg/dL); riduzione del colesterolo LDL (117 + 30,1 vs 106 + 26,3 mg/dL)	(49)
Diabete mellito tipo II	Sibutramina 10 mg + L-carnitina 2 g per 12 mesi	254 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	Riduzione del BMI; miglioramento del profilo lipidico (TG, LDL); riduzione della IR e della glicemia	(50)
NAFLD	600 mg/die di L-carnitina per 3 mesi	45 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	Riduzione di concentrazione sierica di ALT, AST e bilirubina totale (P < 0,05)	(51)
Diabete mellito tipo II	2 g/die di L-carnitina per 3 mesi	41 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	Riduzione del colesterolo LDL ossidato (-15,1 U/L; P < 0,001); riduzione del colesterolo LDL (-0,45 mmol/L; P < 0,05); riduzione dei TG (-1,02 mmol/L; P < 0,001); riduzione delle concentrazioni sieriche di apolipoproteina A1 (-0,12 mg/dL; P < 0,05); riduzione delle concentrazioni sieriche di apolipoproteina B-100 (-0,13 mg/dL; P < 0,05)	(52)

il 5% (12/223) raggiungeva il fabbisogno di PUFAs n-3 indicato. Inoltre, un inadeguato intake di pesce e di PUFAs n-3 è stato associato ad infiammazione por-

tale (P= 0,03 e P= 0,10 rispettivamente) e lobulare (P= 0,09 e P= 0,004 rispettivamente) (studio osservazionale trasversale).

Petit JM et al. (41) hanno dimostrato che elevati livelli di PUFAs n-6 e di PUFAs n-3, misurati negli eritrociti umani, sono associati ad una bassa prevalenza di steatosi epatica in pazienti con diabete di tipo II. Lo studio condotto su 162 pazienti diabetici, ha riportato una incidenza della steatosi epatica nel 67,2% dei soggetti (109 pazienti), i quali avevano un BMI più elevato ( $P=0,0005$ ) ed una trigliceridemia più elevata ( $P=0,009$ ), rispetto ai soggetti diabetici, non steatosici (studio randomizzato non controllato). Tali risultati suggeriscono che una supplementazione di PUFAs n-6 e di PUFAs n-3 potrebbe rappresentare un promettente trattamento per la NAFLD nei pazienti diabetici.

*Spirulina platensis*, fonte naturale di PUFAs (Tab. 4) è stata utilizzata per il trattamento della NAFLD. La somministrazione orale di 4,5 g/die di tale alga per 3 mesi in 3 pazienti steatosici ha prodotto una riduzione delle ALT (del 34-54%), una riduzione del colesterolo totale (4-26%), un aumento del colesterolo HDL (15%), una riduzione del colesterolo LDL (7-26%) ed una riduzione dei TG (12-32%) (42).

### Attuali approcci terapeutici al trattamento della NAFLD

Le correnti raccomandazioni dietetiche per il trattamento della NAFLD consistono nella perdita di peso, nel modificare le abitudini alimentari, nella modulazione del meccanismo di IR, nella regolazione dello stress ossidativo, e nella protezione del fegato dal danno causato dall'accumulo di lipidi (Tab. 7).

#### Perdita di peso

Nei soggetti steatosici, un aumento dell'esercizio fisico è associato alla riduzione del grasso addominale, del grasso intraepatico e al miglioramento dello stato di IR (43). La pratica costante di attività fisica (più di 3 volte alla settimana per almeno 30 minuti, per 3 mesi consecutivi) è correlato ad una riduzione del 50% dei valori di transaminasi epatiche nei pazienti steatosici con obesità (44). Il meccanismo d'azione spiegato dall'esercizio fisico consiste in una riduzione dello stress ossidativo e della infiammazione causata dall'accumulo di grasso nel fegato (44). Una perdita di peso tra il 5-10% viene correlata positivamente con il

**Tabella 7.** Principali strategie di trattamento della NAFLD.

Strategia	Intervento terapeutico	Bibliografia
Perdita di peso	Modificare stile di vita	(43)
	Orlistat, Sibutramina	(56)
	Dieta a basso contenuto calorico (800-1800 Kcal/die) e a molto basso contenuto calorico (< 800 Kcal/die)	(44),(45)
	Esercizio fisico	(43),(44)
	L-carnitina	(44), (45-51)
	Chirurgia bariatrica	(53)
Modifica delle abitudini alimentari	Alimentazione variegata; consumo alimenti integrali; > 9 porzioni frutta e verdura;	(28)
	Riduzione consumo grassi saturi; aumento consumo acidi grassi monoinsaturi e PUFAs n-3, stanoli vegetali ed esteri degli steroli;	(28)
	Consumo di almeno 2 porzioni di pesce/settimana; grassi saturi < 10%/die; colesterolo totale giornaliero < 300 mg/die	(28)
	Riduzione assunzione dei carboidrati (20-50 g/die)	(44)
Antiossidanti	Vitamina E (300 – 1000 IU/die)	(54)
Resistenza insulinica	Metformina, tiazolidinediones	(44),(56)
Altri farmaci	Acido ursodeossicolico, acido tauroursodeossicolico, pentossifillina	(44), (45), (56-67)
Integratori alimentari	PUFAs n-3 (EPA + DHA)	(4),(32-39)
	Probiotici e prebiotici	(53)

miglioramento del danno epatico (43). Diete a basso contenuto calorico (800 – 1800 Kcal/die) e a molto basso contenuto calorico (< 800 Kcal/die) e/o restrizioni nell'assunzione di carboidrati (20-50 g/die) riducono significativamente il peso corporeo ed il contenuto lipidico intraepatico (44). Petersen KF et al. (45) hanno dimostrato che una dieta ipocalorica (1200 Kcal/die) riduce significativamente il peso corporeo, i lipidi intraepatici e migliora la IR (studio randomizzato controllato).

Anche la somministrazione di L-carnitina, un precursore della carnitina-palmitoil-transferasi, enzima coinvolto nel trasporto degli acidi grassi nei mitocondri durante il catabolismo lipidico per la sintesi di ATP, viene utilizzato per il controllo del peso nei pazienti steatosici (44). Uno studio aperto multicentrico condotto su 119 pazienti affetti da patologie epatiche ha verificato l'efficacia di un trattamento a base di 2,472 mg/die di L-carnitina per 12 mesi. Il trattamento ha determinato una normalizzazione delle concentrazioni sieriche di ALT dell'85,7% ( $P < 0,0001$ ) alla fine del trattamento (46). Uno studio randomizzato controllato ha verificato che un trattamento di 4 g/die di L-carnitina per 30 giorni in 84 soggetti anziani in sovrappeso, è in grado di ridurre la massa grassa (-3,1 Kg), aumentare la massa magra (+2,1 Kg), ridurre il colesterolo totale (-1,2 mmol/L) ed il colesterolo LDL (-1,1 mmol/L), aumentare il colesterolo HDL (+ 0,2 mmol/L) e di ridurre la trigliceridemia (-0,3 mmol/L) in modo significativo ( $P < 0,001$ ), rispetto ad un gruppo di controllo trattato con formulazione placebo (47). Rondanelli M et al. (48) hanno dimostrato un aumento della sazietà in 37 soggetti in sovrappeso (BMI: 25-35) che hanno ricevuto una formulazione funzionale (CBFI) a base di L-carnitina, capsacinoidi, epigallocatechina gallato e piperina, rispetto ad un gruppo di controllo trattato con placebo (studio in doppio cieco randomizzato controllato). Un miglioramento del profilo lipidico è stato ottenuto dopo trattamento con 3 capsule/die di L-carnitina – 250 mg, per 8 settimane in 30 pazienti dislipidemiche in emodialisi (studio randomizzato controllato) (49). Rispetto ai valori iniziali si sono ottenuti i seguenti miglioramenti: colesterolo totale ( $190 \pm 36,8$  vs  $177 \pm 31,2$  mg/dL); TG ( $210 \pm 64,7$  vs  $190 \pm 54,1$  mg/dL); colesterolo LDL ( $117 \pm 30,1$  vs  $106 \pm 26,3$  mg/dL). Nessuna variazione è stata invece ot-

tenuta nel gruppo trattato con formulazione placebo. L'associazione di L-carnitina (2 g/die) al trattamento di diabete mellito tipo II con sibutramina (10 mg/die) per 12 mesi produce un significativo miglioramento del profilo lipidico, della IR, e della glicemia rispetto al trattamento monoterapico farmacologico con sibutramina in un gruppo di 254 pazienti (50). Uno studio randomizzato controllato condotto su 45 pazienti steatosici che hanno ricevuto per 3 mesi una integrazione di 600 mg/die di L-carnitina ha dimostrato una riduzione significativa ( $P < 0,05$ ) delle concentrazioni sieriche di ALT, AST (aspartato transaminasi) e bilirubina totale, rispetto al gruppo di controllo non trattato (51). Malaguarnera M et al. (52) hanno ottenuto una riduzione del colesterolo LDL ossidato (-15,1 U/L;  $P < 0,001$ ), del colesterolo LDL (-0,45 mmol/L;  $P < 0,05$ ), dei TG (- 1,02 mmol/L;  $P < 0,001$ ), delle concentrazioni sieriche di apolipoproteina A1 (-0,12 mg/dL;  $P < 0,05$ ) e di apolipoproteina B-100 (-0,13 mg/dL;  $P < 0,05$ ) in 41 pazienti affetti da diabete mellito tipo II trattati con 2 g/die di L-carnitina per 3 mesi, rispetto ad un gruppo di 40 soggetti diabetici trattati con formulazione placebo (studio randomizzato controllato). Tali studi clinici sono schematizzati in Tabella 10. Nel contesto della patologia steatosica, gli effetti positivi sulla modulazione della funzionalità glucidica, insulinica e lipidica e nonché nella modulazione del peso corporeo e della sazietà potrebbero favorire la regolazione di tali parametri che risultano essere alterati nella NAFLD.

Infine la chirurgia bariatrica viene altresì proposta per la riduzione del peso corporeo in individui steatosici con obesità grave (53).

#### *Modificazione delle abitudini alimentari*

*The Dietary Guidelines for Americans* consigliano di seguire una alimentazione variegata, consumare preferibilmente alimenti integrali, almeno 9 porzioni tra frutta e verdura, mentre le dosi di carne, pesce e proteine vegetali devono essere fornite secondo il fabbisogno giornaliero individuale (28). *The American Dietetic Association* raccomanda di ridurre il consumo di acidi grassi saturi e di aumentare invece il consumo di acidi grassi monoinsaturi, PUFAs n-3, stanoli vegetali ed esteri degli steroli. *The American Heart Association* prescrive il consumo di almeno due porzioni di pesce/

settimana, di evitare il consumo di grassi saturi *trans*, di limitare il consumo di acidi grassi saturi a < 10%/die, e di limitare l'apporto di colesterolo totale giornaliero a < 300 mg (28).

### *Antiossidanti*

La somministrazione di Vitamina E ( $\alpha$ -tocoferolo) ad elevate dosi (300 – 1000 IU/die) viene altresì indicata per il controllo delle transaminasi epatiche nei pazienti steatosici (54).

### *Trattamento farmacologico*

Masterton GS et al. (56) hanno riportato l'utilizzazione di alcuni farmaci inibitori della lipasi per il controllo del peso in pazienti steatosici, tra cui Orlistat, Sibutramina, ed altri agenti farmacologici per il controllo del meccanismo della IR (metformina e tiazolidinediones). Il meccanismo di azione di metformina e tiazolidinediones è basato sulla stimolazione del metabolismo lipidico e del GLU, e su un miglioramento del signalling insulinico nel fegato e nei tessuti adiposi (44). A livello molecolare la metformina attiva la via LKB1/AMPK per accelerare l'uptake di GLU, attraverso la dissociazione del complesso di trascrizione glucenetic CREB-CBP-TORC2, e tramite un aumento della attività lipolitica attraverso la regolazione di enzimi coinvolti con il metabolismo lipidico, tra cui l'enzima acetil-CoA carbossilasi, l'enzima HMG-CoA reduttasi e la sintasi degli acidi grassi (44).

Altre strategie consistono nella somministrazione di acido ursodeossicolico (UDCA), un acido biliare aventi proprietà epatoprotettive, immunomodulanti, anti-apoptotiche, in grado di ridurre le concentrazioni plasmatiche di TNF- $\alpha$  e lo stress ossidativo nel reticolo endoplasmatico, di migliorare la sensibilità insulinica, e viene perciò utilizzato per proteggere il fegato dal danno causato dal meccanismo ezipatogenetico steatosico (44), (57) (Tab. 8). Uno studio clinico randomizzato effettuato su 1160 soggetti steatosi riceventi elevate dosi giornaliere di UDCA (23-35 mg/kg) per 24 mesi ha prodotto un significativo ( $P < 0,005$ ) miglioramento del fegato grasso, della infiammazione e fibrosi epatica, dei livelli di ALT e gamma glutamiltranspeptidasi (gamma-GT) e di conseguenza della funzionalità epatica (57).

Troisi G et al. (58) in uno studio caso-controllo condotto su 43 pazienti affetti da NAFLD, hanno somministrato 300-450 mg/die di UDCA verificando una riduzione del 75% dell'indice di severità steatosica (0-3) ed una riduzione significativa ( $P < 0,001$ ) delle concentrazioni sieriche di ALT, AST e gamma-GT a partire dal 3 mese di trattamento. Un trattamento giornaliero di 15 mg/kg di UDCA per 38 settimane somministrato a 13 pazienti affetti da NASH (studio prospettico non randomizzato e non controllato) ha prodotto una riduzione significativa ( $P < 0,05$ ) delle concentrazioni sieriche di ALT e gamma-GT, ed un miglioramento dello stato infiammatorio, necrotico e fibrotico del tessuto epatico (59). Dufour JF et al. (60) in uno studio randomizzato controllato, hanno verificato che la somministrazione di 12-15 mg/kg di UDCA + 400 IU di Vitamina E per 2 volte/die, significativamente riduce ( $P < 0,05$ ) i valori sierici di ALT e AST, in 15 pazienti affetti da NASH. Méndez-Sánchez N et al. (61) in uno studio clinico controllato e condotto in doppio cieco su 27 pazienti affetti da NAFLD (14 soggetti hanno ricevuto 1200 mg/die di UDCA, mentre 13 soggetti hanno ricevuto una formulazione placebo), hanno verificato che il trattamento somministrato in parallelo ad un regime ipocalorico (1200 Kcal/die) in entrambi i gruppi, produce una significativa riduzione del BMI ( $P < 0,001$ ), dell'indice di severità steatosica ( $P < 0,003$ ) delle concentrazioni sieriche di ALT e AST ( $P < 0,001$ ), nel gruppo trattato rispetto al gruppo placebo. Di contro, invece, uno studio randomizzato controllato condotto su 126 pazienti affetti da NASH non ha verificato alcuna riduzione del BMI, né alcun miglioramento dell'infiammazione e della fibrosi del tessuto epatico, in 126 pazienti affetti da NASH che hanno ricevuto giornalmente 13-15 mg/kg di UDCA per 2 anni, rispetto ad un gruppo di controllo trattato con formulazione placebo (62). Mentre Santos VN et al. (63) in uno studio randomizzato e condotto in doppio cieco, hanno verificato l'efficacia di un trattamento giornaliero a base di 10 mg/kg di UDCA per 3 mesi in 30 pazienti steatosici con obesità grave (BMI > 25) nel miglioramento dello stato del fegato grasso ( $P < 0,01$ ) valutato con metodo ultrasonografico, e nella riduzione ( $P < 0,05$ ) delle concentrazioni sieriche di ALT, AST e gamma-GT.

L'acido tauroursodeossicolico (TUDCA), è anch'esso un acido biliare e viene solitamente uti-

**Tabella 8.** Studi clinici riguardanti i principali effetti terapeutici dell'acido ursodeossicolico (UDCA) nel trattamento di NAFLD.

Patologia	Somministrazione	Gruppo clinico	Studio clinico	Effetto	Bibliografia
NAFLD	23-35 mg/kg/die UDCA per 24 mesi	1160 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	miglioramento del fegato grasso, della infiammazione e fibrosi epatica, dei livelli di ALT e gamma-GT (P < 0,005)	(57)
NAFLD	300-450 mg/die di UDCA	43 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	riduzione del 75% dell'indice di severità steatosica; riduzione (P < 0,001) delle concentrazioni sieriche di ALT, AST e gamma-GT	(58)
NASH	15 mg/kg/die di UDCA per 38 settimane	13 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	riduzione (P < 0,05) delle concentrazioni sieriche di ALT e gamma-GT; miglioramento dello stato infiammatorio, necrotico e fibrotico del tessuto epatico	(59)
NASH	12-15 mg/kg di UDCA + 400 IU di Vitamina E per 2 volte/die	15 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	Riduzione (P < 0,05) dei valori sierici di ALT e AST	(60)
NAFLD	1200 mg/die di UDCA	27 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	Riduzione del BMI (P < 0,001); riduzione dell'indice di severità steatosica (P < 0,003); riduzione delle concentrazioni sieriche di ALT e AST (P < 0,001)	(61)
NASH	13-15 mg/kg/die di UDCA per 2 anni	126 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	No riduzione del BMI; no miglioramento dell'infiammazione e della fibrosi del tessuto epatico	(62)
NAFLD	10 mg/kg/die di UDCA per 3 mesi	30 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	Miglioramento dello stato del fegato grasso (P < 0,01); riduzione (P < 0,05) delle concentrazioni sieriche di ALT, AST e gamma-GT	(63)

lizzato nel trattamento della colestasi e di altre patologie epatiche (Tab. 9) (64). Kars M et al. (64) in uno studio randomizzato controllato hanno verificato che il trattamento con 1750 mg/die di TUDCA per 4 settimane migliora significativamente (P < 0,05) la IR in un gruppo di 20 soggetti obesi (BMI > 30) probabilmente tramite un miglioramento del signalling insulinico. Le proprietà enzimatico-modulanti sono state verificate in un gruppo di 140 pazienti affetti da epatite C cronica, i quali hanno ricevuto per 6 mesi 500 o 750 mg/die di TUDCA. Alla fine del trattamento, una riduzione significativa (P < 0,001) delle ALT è stata verificata per entrambi i dosaggi (studio multicentrico controllato) (65). Analogamente, il trattamento di 23 pazienti cirrotici con 500 mg/die di TUDCA per 6 mesi (studio osservazionale trasver-

sale) ha verificato una significativa riduzione delle concentrazioni sieriche delle transaminasi epatiche (66). Una riduzione significativa (P < 0,001) della saturazione del colesterolo è stata altresì verificata dopo 4-6 settimane di trattamento con 3,5-16,6 mg/kg/die di TUDCA in 33 pazienti affetti da patologia epatobiliari (67). Uno studio randomizzato non controllato condotto da Gallo V et al. (68) ha confrontato gli effetti terapeutici di un trattamento a base di 10 mg/kg/die di TUDCA e di 10 mg/kg/die di UDCA per 6 mesi in un gruppo di 34 soggetti con calcoli della cistifellea. I risultati hanno verificato una maggiore efficacia (P < 0,01) dell'UDCA nella rimozione dei calcoli biliari. 500 mg/die di TUDCA sono risultati essere efficaci nella prevenzione dei sintomi dispeptici in 101 pazienti post-colecistectomizzati, rispetto

**Tabella 9.** Studi clinici riguardanti i principali effetti terapeutici dell'acido tauroursodeossicolico (TUDCA) nel trattamento di patologie epatiche.

Patologia	Somministrazione	Gruppo clinico	Studio clinico	Effetto	Bibliografia
Obesità	1750 mg/die di TUDCA per 4 settimane	20 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	Riduzione IR (P < 0,05)	(64)
Epatite C cronica	500, 750 mg/die di TUDCA per 6 mesi	150 pazienti	Studio aperto multicentrico	Riduzione ALT (P < 0,001)	(65)
Cirrosi epatica	500 mg/die di TUDCA per 6 mesi	23 pazienti	Studio semplice, randomizzato non controllato	Riduzione transaminasi epatiche	(66)
Patologie epatobiliari	3,5 – 16,6 mg/kg/die di TUDCA per 4-6 settimane	33 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato controllato	Riduzione saturazione del colesterolo (P < 0,001)	(67)
Calcoli della cistifellea	10 mg/kg/die di TUDCA vs 10 mg/kg/die di UDCA per 6 mesi	34 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato controllato	UDCA è più efficace rispetto TUDCA nella rimozione dei calcoli biliari	(68)
Prevenzione sintomi dispeptici, post-colecistectomia	500 mg/die di TUDCA	101 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	Prevenzione comparsa sintomatologia dispeptica	(46)

ad un gruppo di controllo (102 pazienti), che non ha ricevuto il trattamento (studio randomizzato controllato) (46). Non è stato possibile identificare studi clinici comprovanti le proprietà terapeutiche di tale acido biliare nel trattamento della patologia steatosica; tuttavia le proprietà di regolazione del meccanismo di IR e dei livelli sierici di transaminasi epatiche, potrebbero favorire tale composto nel trattamento terapeutico della NAFLD.

Anche la pentossifillina, agente epatoprotettore ad attività anti-TNF, viene utilizzato per ridurre il livello della fibrosi nei pazienti con fegato grasso (44).

#### *Probiotici e prebiotici*

Evidenza scientifiche supportano la ipotesi secondo cui il microbiota intestinale è coinvolto nel meccanismo eziopatogenetico dell'obesità, dove ne controlla lo stoccaggio dei grassi viscerali. Di conseguenza, una disbiosi intestinale in soggetti steatosici ed obesi costituisce un fattore di rischio per la progressione di tale patologia, attraverso la promozione della permeabilità intestinale e favorendo l'assorbimento di endotossine pro-infiammatorie ad effetto pro-fibrogenetico sul fegato (55). In tale contesto la somministrazione di probiotici e prebiotici favorirebbe la manipolazione del microbiota ripristinando una condizione di equilibrio. La somministrazione di 12

miliardi CFU/die per 8 settimane di *Lactobacillus GG* in bambini steatosici di età media 10,7 anni, ha prodotto effetti positivi nella riduzione del BMI, del grasso viscerale e degli enzimi ALT, fino a normalizzare i valori nell'80% dei casi (studio in doppio cieco randomizzato controllato) (53).

Un'alternativa al trattamento classico, sebbene valutato solo sperimentalmente sui ratti, sarebbe rappresentata dalla somministrazione di latte di cammello (50 ml/die) per 8 settimane (69). Tale integrazione è risultata essere in grado di ridurre in modo significativo il grasso epatico, l'infiltrazione cellulare nel fegato, di migliorare la funzionalità epatica, di aumentare i livelli di GSH e della catalasi (CAT), di ridurre i valori della MDA, di migliorare il profilo lipidico (TG, colesterolo totale, colesterolo LDL, colesterolo VLDL) e la IR. Tali valori, infatti, sono risultati essere alterati in seguito a somministrazione di una dieta integrata con colesterolo (1,5%) la quale ha prodotto un quadro patologico nei ratti studiati paragonabile alla NASH.

Se ne deduce che una integrazione dell'alimentazione con prebiotici e/o probiotici potrebbe fornire un reale supporto alla terapia dell'obesità nei pazienti steatosici, attraverso la regolazione della funzionalità del microbiota intestinale, ma anche nel miglioramento dei parametri lipidici che risultano essere alterati in tale patologia.

**Tabella 10.** Studi clinici riguardanti i principali effetti terapeutici dell'L-carnitina.

Patologia	Somministrazione	Gruppo clinico	Studio clinico	Effetto	Bibliografia
Patologie epatiche	2,472 mg/die di L-carnitina per 12 mesi	119 pazienti	Studio aperto multicentrico	Normalizzazione dell'85,7% dei valori ALT (P < 0,0001)	(46)
Sovrappeso	4 g/die di L-carnitina per 30 giorni	84 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato controllato	Riduzione della massa grassa (-3,1 Kg); aumento della massa muscolare (+2.1 Kg); riduzione del colesterolo totale (-1,2 mmol/L); riduzione del colesterolo LDL (-1,1 mmol/L); riduzione dei TG (-0,3 mmol/L); aumento del colesterolo HDL (+0,2 mmol/L) (P < 0,001)	(47)
Sovrappeso	CBFI (L-carnitina + capsacinoidi + epigallocatechin gallato + piperina) per 8 settimane	37 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato controllato	Aumento della sazietà	(48)
Dislipidemia	3 cp/die L-carnitina 250 mg, per 8 settimane	30 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato controllato	Riduzione del colesterolo totale (190 + 36,8 vs 177 + 31,2 mg/dL); riduzione TG (210 + 64, 7 vs 190 + 54,1 mg/dL); riduzione del colesterolo LDL (117 + 30,1 vs 106 + 26,3 mg/dL)	(49)
Diabete mellito tipo II	Sibutramina 10 mg + L-carnitina 2 g per 12 mesi	254 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	Riduzione del BMI; miglioramento del profilo lipidico (TG, LDL); riduzione della IR e della glicemia	(50)
NAFLD	600 md/die di L-carnitina per 3 mesi	45 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	Riduzione di concentrazione sierica di ALT, AST e bilirubina totale (P < 0,05)	(51)
Diabete mellito tipo II	2 g/die di L-carnitina per 3 mesi	41 pazienti	Studio in doppio cieco, randomizzato, controllato	Riduzione del colesterolo LDL ossidato (-15,1 U/L; P < 0,001); riduzione del colesterolo LDL (-0,45 mmol/L; P < 0,05); riduzione dei TG (- 1,02 mmol/L; P < 0,001); riduzione delle concentrazioni sieriche di apolipoproteina A1 (-0,12 mg/dL; P < 0,05); riduzione delle concentrazioni sieriche di apolipoproteina B-100 (-0,13 mg/dL; P < 0,05)	(52)

Infine, la supplementazione della dieta con PUFAs n-3 produce effetti positivi sull'andamento della NAFLD, attraverso la riduzione dell'infiammazione, della fibrosi e dell'accumulo di grasso nel fegato,

e tramite un miglioramento dei valori di transaminasi epatiche e trigliceridemia, come già discusso in questa review (4, 32-39).

## Conclusioni

Il corretto bilancio tra apporto nutrizionale di omega 6 ed omega 3 è importante per un buono stato di salute. Negli ultimi 15 anni l'aumento del consumo di alimenti di origine industriale (vegetali: olio di mais, olio di girasole, soia; animali: carne bovina, suina e pollame), ricchi in grassi vegetali, a discapito dei prodotti naturali, tra cui il pesce (soprattutto tonno, salmone e sgombro), ha modificato in eccesso tale rapporto fino a raggiungere i valori attuali di 11:1 (70). Un siffatto sbilanciamento è responsabile dell'aumentata incorporazione di PUFAs n-6 nei fosfolipidi di membrana, dell'aumentata produzione di citochine pro-infiammatorie e dell'attività macrofagica delle cellule di Kupfer, concorrendo a generare e ad amplificare processi infiammatori, tra cui malattie cardiovascolari, steatosi e steatoepatite non alcolica, cancro, osteoporosi e malattie autoimmuni (70), (3). Di contro, un rapporto più basso (2:1, 3:1) a favore di un aumento dell'intake di PUFAs n-3 è responsabile degli effetti anti-infiammatori (71), della riduzione di aggregazione piastrinica, trigliceridemia e pressione sanguigna (72).

Una corretta integrazione alimentare con PUFAs n-6 può costituire un beneficio al trattamento terapeutico della NAFLD, come dimostrato da evidenze scientifiche, poiché i PUFAs n-6 sono in grado di agire su diversi livelli di squilibrio coinvolti nel metabolismo epatico della steatosi. Riteniamo, inoltre, che tale integrazione debba essere associata ad una revisione delle abitudini alimentari e degli stili di vita, che mirino a ridurre il grasso corporeo viscerale e quindi l'accumulo di TG nel fegato.

La conoscenza, inoltre, della presenza di PUFAs sia in alimenti di origine animale che vegetale può fornire una utile guida di approvvigionamento "naturale" che vada aldilà della integrazione nutraceutica, in soggetti che seguono sia un regime onnivoro, ma anche vegetariano/vegano. In questi ultimi, infatti, la dieta appare essere estremamente carente di PUFAs n-3 e PUFAs n-6, per cui attraverso la selezione di specifici alimenti è possibile fornire all'organismo un corretto fabbisogno di PUFAs, indispensabili per il corretto funzionamento e la corretta stabilità strutturale delle membrane cellulari.

Inoltre, le proprietà anti-infiammatorie dei PUFAs n-6 vengono esplicate anche indirettamente nella prevenzione di altre patologie degenerative di carattere infiammatorio, tra cui le malattie neurodegenerative, la sclerosi multipla, l'aterosclerosi ed altre patologie cardiovascolari, e nel rafforzamento del sistema immunitario.

Nel nostro contesto, risulta essere estremamente importante la conoscenza delle multiproprietà nutrizionali dei PUFAs, per poter meglio sviluppare strategie terapeutiche e posologie d'uso da applicare nei pazienti affetti da NAFLD.

## Bibliografia

1. Catala A. Five Decades with Polyunsaturated Fatty Acids: Chemical Synthesis, Enzymatic Formation, Lipid Peroxidation and Its Biological Effects. *Journal of lipids*. 2013;2013:710290.
2. Zhao M, Lamers Y, Ralat MA, Coats BS, Chi YY, Muller KE, et al. Marginal vitamin B-6 deficiency decreases plasma (n-3) and (n-6) PUFAs concentrations in healthy men and women. *The Journal of nutrition*. 2012 Oct;142(10):1791-7.
3. St-Jules DE, Watters CA, Brunt EM, Wilkens LR, Novotny R, Belt P, et al. Estimation of fish and omega-3 fatty acid intake in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2013 Nov;57(5):627-33.
4. Botelho PB, Mariano Kda R, Rogero MM, de Castro IA. Effect of Echium oil compared with marine oils on lipid profile and inhibition of hepatic steatosis in LDLr knockout mice. *Lipids in health and disease*. 2013;12:38.
5. Grieger JA, Miller MD, Cobiac L. Investigation of the effects of a high fish diet on inflammatory cytokines, blood pressure, and lipids in healthy older Australians. *Food & nutrition research*. 2014 Jan 15;58.
6. Blasbalg TL, Hibbeln JR, Ramsden CE, Majchrzak SF, Rawlings RR. Changes in consumption of omega-3 and omega-6 fatty acids in the United States during the 20th century. *The American journal of clinical nutrition*. 2011 May;93(5):950-62.
7. Bjermo H, Iggman D, Kullberg J, Dahlman I, Johansson L, Persson L, et al. Effects of n-6 PUFAs compared with SFAs on liver fat, lipoproteins, and inflammation in abdominal obesity: a randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition*. 2012 May;95(5):1003-12.
8. Pereira H, Barreira L, Figueiredo F, Custodio L, Vizetto-Duarte C, Polo C, et al. Polyunsaturated Fatty acids of marine macroalgae: potential for nutritional and pharmaceutical applications. *Marine drugs*. 2012 Sep;10(9):1920-35.
9. Gouveia L, Oliveira AC. Microalgae as a raw material for biofuels production. *Journal of industrial microbiology &*



- biotechnology. 2009 Feb;36(2):269-74.
10. Ferramosca A, Zara V. Modulation of hepatic steatosis by dietary fatty acids. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2014 Feb 21;20(7):1746-55.
  11. Ozturk Y, Soylu OB. Fatty liver in childhood. *World journal of hepatology*. 2014 Jan 27;6(1):33-40.
  12. Di Minno MN, Russolillo A, Lupoli R, Ambrosino P, Di Minno A, Tarantino G. Omega-3 fatty acids for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2012 Nov 7;18(41):5839-47.
  13. Lee JJ, Kwon OS. [Occult hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma]. *Korean J Gastroenterol*. 2013 Sep;62(3):160-4.
  14. Alkhoury N, Eng K, Lopez R, Nobili V. Non-high-density lipoprotein cholesterol (non-HDL-C) levels in children with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Springerplus*. 2014;3:407.
  15. Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *The Journal of clinical investigation*. 2004 Jul;114(2):147-52.
  16. El-Badry AM, Graf R, Clavien PA. Omega 3 - Omega 6: What is right for the liver? *Journal of hepatology*. 2007 Nov;47(5):718-25.
  17. El-Badry AM, Moritz W, Contaldo C, Tian Y, Graf R, Clavien PA. Prevention of reperfusion injury and microcirculatory failure in macrosteatotic mouse liver by omega-3 fatty acids. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2007 Apr;45(4):855-63.
  18. Kleiner DE, Chalasani NP, Lee WM, Fontana RJ, Bonkovsky HL, Watkins PB, et al. Hepatic histological findings in suspected drug-induced liver injury: systematic evaluation and clinical associations. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2014 Feb;59(2):661-70.
  19. Cui Y, Wang Q, Li X, Zhang X. Experimental nonalcoholic fatty liver disease in mice leads to cytochrome p450 2a5 upregulation through nuclear factor erythroid 2-like 2 translocation. *Redox biology*. 2013;1(1):433-40.
  20. Pagano C, Soardo G, Esposito W, Fallo F, Basan L, Donnini D, et al. Plasma adiponectin is decreased in nonalcoholic fatty liver disease. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2005 Jan;152(1):113-8.
  21. Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nature reviews Immunology*. 2006 Oct;6(10):772-83.
  22. Di Minno MN, Iervolino S, Peluso R, Russolillo A, Lupoli R, Scarpa R, et al. Hepatic steatosis and disease activity in subjects with psoriatic arthritis receiving tumor necrosis factor-alpha blockers. *The Journal of rheumatology*. 2012 May;39(5):1042-6.
  23. Liu H, Lu HY. Nonalcoholic fatty liver disease and cardiovascular disease. *World J Gastroenterol*. 2014 Jul 14;20(26):8407-15.
  24. Alwahsh SM, Xu M, Seyhan HA, Ahmad S, Mihm S, Ramadori G, et al. Diet high in fructose leads to an overexpression of lipocalin-2 in rat fatty liver. *World J Gastroenterol*. 2014 Feb 21;20(7):1807-21.
  25. Renaud HJ, Cui JY, Lu H, Klaassen CD. Effect of diet on expression of genes involved in lipid metabolism, oxidative stress, and inflammation in mouse liver-insights into mechanisms of hepatic steatosis. *PLoS one*. 2014;9(2):e88584.
  26. Fink A, Rufer CE, Le Grandois J, Roth A, Aoude-Werner D, Marchioni E, et al. Dietary walnut oil modulates liver steatosis in the obese Zucker rat. *European journal of nutrition*. 2014 Mar;53(2):645-60.
  27. Araya J, Rodrigo R, Videla LA, Thielemann L, Orellana M, Pettinelli P, et al. Increase in long-chain polyunsaturated fatty acid n - 6/n - 3 ratio in relation to hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical science (London, England: 1979)*. 2004 Jun;106(6):635-43.
  28. Zivkovic AM, German JB, Sanyal AJ. Comparative review of diets for the metabolic syndrome: implications for nonalcoholic fatty liver disease. *The American journal of clinical nutrition*. 2007 Aug;86(2):285-300.
  29. Xu HE, Lambert MH, Montana VG, Parks DJ, Blanchard SG, Brown PJ, et al. Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors. *Molecular cell*. 1999 Mar;3(3):397-403.
  30. Stienstra R, Mandard S, Patsouris D, Maass C, Kersten S, Muller M. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha protects against obesity-induced hepatic inflammation. *Endocrinology*. 2007 Jun;148(6):2753-63.
  31. Hao W, Wong OY, Liu X, Lee P, Chen Y, Wong KK. omega-3 fatty acids suppress inflammatory cytokine production by macrophages and hepatocytes. *Journal of pediatric surgery*. 2010 Dec;45(12):2412-8.
  32. O'Sullivan A, Armstrong P, Schuster GU, Pedersen TL, Allayee H, Stephensen CB, et al. Habitual diets rich in dark-green vegetables are associated with an increased response to omega-3 fatty acid supplementation in Americans of African ancestry. *The Journal of nutrition*. 2014 Feb;144(2):123-31.
  33. Capanni M, Calella F, Biagini MR, Genise S, Raimondi L, Bedogni G, et al. Prolonged n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation ameliorates hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a pilot study. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2006 Apr 15;23(8):1143-51.
  34. Spadaro L, Magliocco O, Spampinato D, Piro S, Oliveri C, Alagona C, et al. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2008 Mar;40(3):194-9.
  35. Zhu FS, Liu S, Chen XM, Huang ZG, Zhang DW. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids from seal oils on nonalcoholic fatty liver disease associated with hyperlipidemia. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2008 Nov 7;14(41):6395-400.
  36. Sofi F, Giangrandi I, Cesari F, Corsani I, Abbate R, Gensini GF, et al. Effects of a 1-year dietary intervention with n-3 polyunsaturated fatty acid-enriched olive oil on non-

- alcoholic fatty liver disease patients: a preliminary study. *International journal of food sciences and nutrition*. 2010 Dec;61(8):792-802.
37. Tanaka N, Sano K, Horiuchi A, Tanaka E, Kiyosawa K, Aoyama T. Highly purified eicosapentaenoic acid treatment improves nonalcoholic steatohepatitis. *Journal of clinical gastroenterology*. 2008 Apr;42(4):413-8.
  38. Nobili V, Bedogni G, Alisi A, Pietrobattista A, Rise P, Galli C, et al. Docosahexaenoic acid supplementation decreases liver fat content in children with non-alcoholic fatty liver disease: double-blind randomised controlled clinical trial. *Archives of disease in childhood*. 2011 Apr;96(4):350-3.
  39. Vega GL, Chandalia M, Szczepaniak LS, Grundy SM. Effects of N-3 fatty acids on hepatic triglyceride content in humans. *Journal of investigative medicine: the official publication of the American Federation for Clinical Research*. 2008 Jun;56(5):780-5.
  40. Dasarathy S, Dasarathy J, Khiyami A, Yerian L, Hawkins C, Sargent R, et al. Double-blind Randomized Placebo-controlled Clinical Trial of Omega 3 Fatty Acids for the Treatment of Diabetic Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis. *Journal of clinical gastroenterology*. 2014 Feb 27.
  41. Petit JM, Guiu B, Duviillard L, Jooste V, Brindisi MC, Athias A, et al. Increased erythrocytes n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids is significantly associated with a lower prevalence of steatosis in patients with type 2 diabetes. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2012 Aug;31(4):520-5.
  42. Ferreira-Hermosillo A, Torres-Duran PV, Juarez-Oropeza MA. Hepatoprotective effects of *Spirulina maxima* in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a case series. *Journal of medical case reports*. 2010;4:103.
  43. Attar BM, Van Thiel DH. Current concepts and management approaches in nonalcoholic fatty liver disease. *TheScientificWorldJournal*. 2013;2013:481893.
  44. Xiao J, Guo R, Fung ML, Liong EC, Tipoe GL. Therapeutic approaches to non-alcoholic fatty liver disease: past achievements and future challenges. *Hepatobiliary & pancreatic diseases international: HBDP INT*. 2013 Apr;12(2):125-35.
  45. Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Lehrke M, Hendler RE, Shulman GI. Reversal of nonalcoholic hepatic steatosis, hepatic insulin resistance, and hyperglycemia by moderate weight reduction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2005 Mar;54(3):603-8.
  46. Croce E, Golia M, Trignano M, Occhioni G, Pisano J, La Rocca R, et al. [Rationale for the use of bile salts after cholecystectomy: results of a controlled clinical study using tauroursodeoxycholic acid (TUDCA)]. *Annali italiani di chirurgia*. 1993 Sep-Oct;64(5):533-7.
  47. Pistone G, Marino A, Leotta C, Dell'Arte S, Finocchiaro G, Malaguarnera M. Levocarnitine administration in elderly subjects with rapid muscle fatigue: effect on body composition, lipid profile and fatigue. *Drugs & aging*. 2003;20(10):761-7.
  48. Rondanelli M, Opizzi A, Perna S, Faliva M, Solerte SB, Fioravanti M, et al. Acute effect on satiety, resting energy expenditure, respiratory quotient, glucagon-like peptide-1, free fatty acids, and glycerol following consumption of a combination of bioactive food ingredients in overweight subjects. *Journal of the American College of Nutrition*. 2013;32(1):41-9.
  49. Naini AE, Sadeghi M, Mortazavi M, Moghadasi M, Harandi AA. Oral carnitine supplementation for dyslipidemia in chronic hemodialysis patients. *Saudi journal of kidney diseases and transplantation: an official publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia*. 2012 May;23(3):484-8.
  50. Derosa G, Maffioli P, Salvadeo SA, Ferrari I, Gravina A, Mereu R, et al. Sibutramine and L-carnitine compared to sibutramine alone on insulin resistance in diabetic patients. *Internal medicine (Tokyo, Japan)*. 2010;49(16):1717-25.
  51. Lim CY, Jun DW, Jang SS, Cho WK, Chae JD, Jun JH. Effects of carnitine on peripheral blood mitochondrial DNA copy number and liver function in non-alcoholic fatty liver disease. *The Korean journal of gastroenterology = Taehan Sohwagi Hakhoe chi*. 2010 Jun;55(6):384-9.
  52. Malaguarnera M, Vacante M, Avitabile T, Malaguarnera M, Cammalleri L, Motta M. L-Carnitine supplementation reduces oxidized LDL cholesterol in patients with diabetes. *The American journal of clinical nutrition*. 2009 Jan;89(1):71-6.
  53. Vajro P, Mandato C, Licenziati MR, Franzese A, Vitale DF, Lenta S, et al. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in pediatric obesity-related liver disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2011 Jun;52(6):740-3.
  54. Zelber-Sagi S, Ratzui V, Oren R. Nutrition and physical activity in NAFLD: an overview of the epidemiological evidence. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2011 Aug 7;17(29):3377-89.
  55. Vajro P, Lenta S, Pignata C, Salerno M, D'Aniello R, De Micco I, et al. Therapeutic options in pediatric non alcoholic fatty liver disease: current status and future directions. *Italian journal of pediatrics*. 2012;38:55.
  56. Masterton GS, Plevris JN, Hayes PC. Review article: omega-3 fatty acids - a promising novel therapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2010 Apr;31(7):679-92.
  57. Xiang Z, Chen YP, Ma KF, Ye YF, Zheng L, Yang YD, et al. The role of ursodeoxycholic acid in non-alcoholic steatohepatitis: a systematic review. *BMC gastroenterology*. 2013;13:140.
  58. Troisi G, Crisciotti F, Gianturco V, D'Ottavio E, Lo Iacono C, Formosa V, et al. The treatment with ursodeoxycholic acid in elderly patients affected by NAFLD and metabolic syndrome: a case-control study. *La Clinica terapeutica*. 2013 May-Jun;164(3):203-7.
  59. Georgescu EF, Georgescu M. Therapeutic options in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). Are all agents alike? Results of a preliminary study. *Journal of gastrointestinal and liver diseases: JGLD*. 2007 Mar;16(1):39-46.
  60. Dufour JF, Oneta CM, Gonvers JJ, Bihl F, Cerny A, Cereda JM, et al. Randomized placebo-controlled trial of ursode-

- oxycholic acid with vitamin e in nonalcoholic steatohepatitis. *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2006 Dec;4(12):1537-43.
61. Mendez-Sanchez N, Gonzalez V, Chavez-Tapia N, Ramos MH, Uribe M. Weight reduction and ursodeoxycholic acid in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. A double-blind, placebo-controlled trial. *Annals of hepatology*. 2004 Jul-Sep;3(3):108-12.
62. Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, Harrison ME, Jorgensen R, Angulo P, et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2004 Mar;39(3):770-8.
63. Santos VN, Lanzoni VP, Szejnfeld J, Shigueoka D, Parise ER. A randomized double-blind study of the short-time treatment of obese patients with nonalcoholic fatty liver disease with ursodeoxycholic acid. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica [et al]*. 2003 Jun;36(6):723-9.
64. Kars M, Yang L, Gregor MF, Mohammed BS, Pietka TA, Finck BN, et al. Tauroursodeoxycholic Acid may improve liver and muscle but not adipose tissue insulin sensitivity in obese men and women. *Diabetes*. 2010 Aug;59(8):1899-905.
65. Crosignani A, Budillon G, Cimino L, Del Vecchio Blanco C, Loguercio C, Ideo G, et al. Tauroursodeoxycholic acid for the treatment of HCV-related chronic hepatitis: a multicenter placebo-controlled study. *Hepato-gastroenterology*. 1998 Sep-Oct;45(23):1624-9.
66. Larghi A, Crosignani A, Battezzati PM, De Valle G, Allocca M, Invernizzi P, et al. Ursodeoxycholic and tauroursodeoxycholic acids for the treatment of primary biliary cirrhosis: a pilot crossover study. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 1997 Apr;11(2):409-14.
67. Muraca M, Vilei MT, Cianci V, Liu XT, Garotta F. Effect of tauroursodeoxycholic acid on biliary lipid composition. A dose-response study. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*. 1995 Jul;33(7):391-3.
68. Gallo V, De Micheli AG, Chiandussi L. [Tauro-ursodeoxycholic acid vs. ursodeoxycholic acid in the dissolution of biliary calculi. Results of a single blind study]. *La Clinica terapeutica*. 1993 Nov;143(5):421-8.
69. Korish AA, Arafah MM. Camel milk ameliorates steatohepatitis, insulin resistance and lipid peroxidation in experimental non-alcoholic fatty liver disease. *BMC complementary and alternative medicine*. 2013;13:264.
70. Ludwig T, Worsch S, Heikenwalder M, Daniel H, Hauner H, Bader BL. Metabolic and immunomodulatory effects of n-3 fatty acids are different in mesenteric and epididymal adipose tissue of diet-induced obese mice. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2013 Jun 1;304(11):E1140-56.
71. Noori N, Dukkupati R, Kovesdy CP, Sim JJ, Feroze U, Murali SB, et al. Dietary omega-3 fatty acid, ratio of omega-6 to omega-3 intake, inflammation, and survival in long-term hemodialysis patients. *American journal of kidney diseases: the official journal of the National Kidney Foundation*. 2011 Aug;58(2):248-56.
72. Gladine C, Newman JW, Durand T, Pedersen TL, Galano JM, Demougeot C, et al. Lipid Profiling following Intake of the Omega 3 Fatty Acid DHA Identifies the Peroxidized Metabolites F4-Neuroprostanes as the Best Predictors of Atherosclerosis Prevention. *PLoS one*. 2014;9(2):e89393.

---

Correspondence:

Carmen Laurino M.Sc.

Dipartimento Chirurgico, Medico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche con Interesse Trapiantologico, Oncologico e di Medicina Rigenerativa

Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

Via Del Pozzo, 71 Modena (Italia).

Tel. +39 0594222483

E-mail: carmen.laurino@hotmail.it