

ALSAL^{SA}



Estratto n° 1
dal Volume n° 1
2013

INTERNATIONAL JOURNAL OF

EXPERIMENTAL & CLINICAL RESEARCH

**Miglioramento dell'Indice di Steatosi Epatica
in pazienti dislipidemici in sovrappeso
con steatosi epatica accertata, trattati con
un nutraceutico ipolipemizzante.**

*Cicero A.F.G., Derosa G., Maffioli P., Reggi A.,
Parini A., Rosticci M., Grandi E., Borghi C.*

INTERNATIONAL JOURNAL OF

EXPERIMENTAL & CLINICAL RESEARCH

Estratto n° 1 dal Volume n° 1 • 2013

EDIZIONE ITALIANA

Editor in Chief

Giorgio Lambertenghi Deliliers (Italy)

Editorial Board

J. Almeda (Portugal)

A. Arun (Ireland)

M. Basaronoglu (Turkey)

P. Bucher (Switzerland)

F. Cardia Salman (Brazil)

A. Ceriello (Spain)

J. Freire de Carvalho (Brazil)

J.C. Kasky (UK)

M. Kubal (India)

J. Reyes Llorena (Cuba)

M. Miravitlles (Spain)

R. Mendez (Puerto Rico)

D. Mona (Switzerland)

G. Popovic (Serbia)

F. Polverino (Usa)

M. Scarpellini (Italia)

T. Sapundzhieva (Bulgaria)

P. Tonino (Usa)

E. Volpi (Brazil)

Editorial Office

Alberto Salini (Production Manager)

Stefano Salini (Peer Review Manager)

Editore

Aisal SA (Ch)

Norme redazionali per gli Autori

Gli Autori dei contributi sono gli unici responsabili del loro contenuto e della riproduzione nelle immagini allegate.

L'accettazione dei contributi è comunque subordinata alla revisione del comitato scientifico, all'esecuzione di eventuali modifiche dettate da esigenze redazionali ed al parere del direttore responsabile.

Il testo dovrà essere editato utilizzando il programma Microsoft Word per Windows o Macintosh. Gli Autori dovranno effettuare le correzioni ed il riinvio (entro e non oltre 7 giorni dal ricevimento) della prima bozza del lavoro. Gli Autori dovranno ottenere l'autorizzazione di "Copyright" nel caso in cui nel testo sono riportate fotografie, figure, grafici, tabelle od altro materiale iconografico già pubblicato altrove. tale materiale dovrà essere corredato dalla dicitura "per concessione di ..." accompagnato dalla citazione fedele della provenienza.

Il manoscritto dovrebbe essere così composto:

Titolo
- Conciso e informativo;
- Nome, Cognome degli Autori, istituzione di appartenenza senza abbreviazioni;
- Nome, Cognome, Foto, Indirizzo, Telefono, Fax, E-mail del 1° Autore al quale sarà indirizzata la corrispondenza.

Introduzione

- Sintetica ed esauriente per far comprendere lo scopo del manoscritto.

Parola Chiave

- È auspicabile indicare un minimo di 3 parole.

Corpo dell'articolo

- Il contenuto non può essere inferiore alle

20 cartelle dattiloscritte (2.000 battute cad.) compresa la bibliografia. L'articolo può essere corredato da iconografie in file ad alta risoluzione (formati: jpg, eps, tif). Le citazioni bibliografiche dovranno essere essenziali ma numerate con il numero arabo (1) secondo ordine di comparsa nel testo.

Bibliografia

- Si richiede di consultare e aderire alle indicazioni riportate nel sito *International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Sample References*.

Avvertenze ai lettori

L'Editore declina ogni responsabilità derivante da errori od omissioni in merito a dosaggio ed impiego di prodotti eventualmente citati negli articoli, ed invita il lettore a controllare personalmente l'esattezza, facendo riferimento alla bibliografia relativa.

Indirizzo per la corrispondenza

Il materiale da pubblicare va indirizzato a:
IJE&CR c/o AISAL SA
Via Pian Scairolo 11
6915 Pambio Noranco
Lugano (Switzerland)

Nessuna parte di questa pubblicazione può essere fotocopiata o riprodotta anche parzialmente senza l'autorizzazione dell'editore.

Miglioramento dell'Indice di Steatosi Epatica in pazienti dislipidemici in sovrappeso con steatosi epatica accertata, trattati con un nutraceutico ipolipemizzante

CICERO A.F.G.¹, DEROSA G.², MAFFIOLI P.², REGGI A.¹, PARINI A.¹, ROSTICCI M.¹, GRANDI E.¹, BORGHI C.¹

Abstract

La steatosi epatica è una condizione molto prevalente in pazienti dislipidemici e obesi ed è considerata attualmente la manifestazione epatica della Sindrome Metabolica, la cui presenza è strettamente correlata ad un incrementato rischio cardiovascolare. Scopo del nostro studio è di valutare se, in pazienti dislipidemici, l'accumulo dei lipidi epatici potrebbe essere migliorato significativamente - rispetto al beneficio ottenuto dalla sola gestione dietetica della malattia - con l'aggiunta di un composto nutraceutico per ridurre i lipidi contenente principalmente monacoline, acidi grassi Omega-3 e L-carnitina.

A questo scopo 40 soggetti (20 maschi, 20 femmine) affetti da dislipidemia di tipo misto (LDL-C>130 mg/dL e TG>200 mg/dL) e da steatoepatite sono stati randomizzati a ricevere, per una durata di 8 settimane, suggerimenti dietetici da soli (gruppo Dieta) o associati al nutraceutico (gruppo Dieta+Nutraceutico).

L'effetto dei trattamenti sul fegato è stato valutato tramite l'Indice di Steatosi Epatica (ISE) [8 x (rapporto AST/ALT) + BMI (+2 se femmina; +2 se diabete mellito)]. Entrambi i gruppi hanno mostrato un miglioramento significativo dei livelli di CT, LDL-C e TG, sebbene il cambiamento sia stato molto più rilevante nei pazienti che hanno assunto il nutraceutico (CT: -41,2% vs. -29,1%; LDL-C: -21,4% vs. -35,8%; TG: -19,1% vs. -50,1%).

¹ Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università di Bologna, Via Albertoni 15, 40138 Bologna, Italia

² Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università di Pavia, P.le C. Golgi 2, 27100, Pavia, Italia

Corresponding Author:

Arrigo F.G. Cicero, MD, PhD, Medical and Surgical Sciences Dept
Via Albertoni 15 - 40138 Bologna, Italy - Tel. ++39 3498558017,
Fax ++39 0516826125 - e-mail: afgcicero@cardionet.it

Key words: Nutraceutico; Omega-3; Policosanoli; Monacoline; Resveratrolo; L-carnitina; Indice di Steatosi Epatica; Steatoepatite; Dislipidemia misto

Anche per quanto riguarda l'ISE, mentre si è osservata una riduzione in entrambi i gruppi, la riduzione è stata più significativa nel gruppo con l'aggiunta del nutraceutico.

Inoltre, tutti i pazienti hanno dimostrato una buona tolleranza al trattamento, in quanto non è stato riscontrato alcun effetto avverso.

In conclusione, il composto nutraceutico sperimentato ha migliorato significativamente il quadro lipidico complessivo rispetto al trattamento basato soltanto su una dieta corretta. Inoltre ha avuto un effetto migliorativo anche sugli indicatori indiretti della steatosi epatica.

Introduzione

La steatosi epatica non alcolica (NAFLD – Non Alcoholic Fatty Liver Disease) è una malattia cronica del fegato molto diffusa, con una prevalenza stimata del 20-30% nei paesi occidentali¹, che raggiunge l'88% tra i soggetti obesi².

È definita come un accumulo di trigliceridi nel fegato superiore al 5% del peso totale del fegato in presenza di un'assunzione giornaliera di alcol inferiore ai 20g³. È costituita da un'ampia gamma di disturbi al fegato, che vanno dalla semplice deposizione di grassi alla steatoepatite e perfino all'insufficienza epatica terminale, tutti caratterizzati dall'accumulo di trigliceridi negli epatociti. Tra le cause principali responsabili per l'accumulo di grassi vi è l'obesità, in particolare l'obesità troncale, grazie alla sua abilità di aumentare il flusso di acidi grassi liberi dal tessuto adiposo verso il fegato⁴.

Inoltre, anche la insulino-resistenza e il diabete di tipo 2 sono implicati nello sviluppo di NAFLD, sebbene non è stato completamente chiarito quale dei due sia la causa e quale l'effetto⁵. Il problema principale legato all'alta prevalenza di NAFLD sono le complicazioni già ben note correlate a questa patologia: NAFLD si considera perciò un fattore di rischio per l'incrementata mortalità per tutte le cause, nonché per la mortalità correlata al fegato, il diabete di tipo 2 e le malattie cardiovascolari⁶, favorendo e accelerando anche il processo aterosclerotico^{7,8}. È per questi motivi che viene considerata la manifestazione epatica della Sindrome Metabolica (SM)⁹.

Ed è per evitare lo sviluppo di tali complicazioni che, negli ultimi anni, nuove tecniche diagnostiche sono state messe a punto. Anche se il gold standard diagnostico rimane tuttora la biopsia epatica seguita dalla valutazione istologica dell'azione NAFLD secondo lo stadio di Kleiner¹⁰, questi sono di fatto test molto invasivi. Alternative sono punteggi derivati da misure antropometriche e test biochimici in combinazione con ecografia TAC e risonanza magnetica.^{11,12} Ma dato che anche le tecniche di imaging sono relativamente costose e richiedono la disponibilità di personale qualificato specializzato, negli ultimi anni sono stati sviluppati degli algoritmi semplici e non invasivi di NAFLD. Uno tra questi è l'Indice di Steatosi Epatica (ISE)¹³, basato sui livelli di aspartato-aminotransferasi (AST) e alanina-aminotransferasi (ALT), sull'indice di massa corporea (BMI), sulla presenza o non di diabete e sul sesso del

soggetto, recentemente applicato in un ampio studio italiano.¹⁴ Ma oltre l'importanza dello screening e l'identificazione di pazienti affetti da NAFLD, esiste un altro problema da risolvere. A tutt'oggi non vi è ancora nessun consenso circa un trattamento specifico e scientificamente verificato per NAFLD¹⁵, la cui gestione rimane per la maggior parte basata su un insieme di consigli dietetici, esercizi fisici per favorire la perdita del peso e terapie per le comorbilità con l'impiego di sostanze insulino-sensibilizzanti o di farmaci per ridurre i lipidi.¹⁶

Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare se, in pazienti dislipidemici, si potesse migliorare l'ISE - rispetto al beneficio ottenuto dalla semplice gestione dietetica della malattia - aggiungendo alla dieta corretta un trattamento a breve termine con un nutraceutico per ridurre i lipidi composto principalmente da monacoline, acidi grassi omega-3 e L-carnitina,

Materiali e metodi

Per questo studio abbiamo arruolato 40 soggetti adulti (20 maschi, 20 femmine; età media 60±11 anni) affetti da dislipidemia mista (LDL-C>130 mg/dL e TG>200 mg/dL) e da steatosi epatica accertata con ecografia. I criteri di esclusione sono stati: familiarità per dislipidemia grave, alto rischio cardiovascolare indipendente dai valori dei lipidi plasmatici (punteggio di Framingham per il rischio >20%), note patologie epatiche e/o muscolari, assunzione di sostanze chimiche o naturali che hanno un effetto sul metabolismo lipidico. Prima di iniziare lo studio, tutti i pazienti sono stati sottoposti ad uno screening basale che comprendeva l'anamnesi, l'esame fisico, i segni vitali, la misura dell'altezza e del peso corporeo ed il calcolo dell'Indice di massa corporea (BMI, body mass index = peso in chilogrammi diviso altezza in metri quadrati). Secondo la nostra prassi clinica quotidiana, tutti i soggetti selezionati hanno ricevuto consigli sul comportamento e sulla dieta, secondo le linee guida più aggiornate del National Cholesterol Educational Program (NCEP Expert Panel, 2001). I pazienti arruolati sono stati randomizzati in due gruppi, uno seguendo unicamente una gestione dietetica di NAFLD, l'altro ricevendo in aggiunta un nutraceutico per ridurre i lipidi.

La composizione del nutraceutico sperimentato è stata la seguente: acidi grassi polinsaturi (PUFA) omega-3 (0,604 g),

Monascus purpureus (0,200 g) titrato con monacoline 1,5% (3 mg), policosanoli (10 mg), L-carnitina (100 mg), coenzime Q10 (10 mg), resveratrolo (10 mg), vitamina B12 (2,5 mcg) e vitamina B6 (3 mg). La durata dello studio è stata di 8 settimane con valutazione, all'inizio e al termine, dei seguenti parametri di laboratorio: colesterolo totale (CT), colesterolo da lipoproteina a bassa densità (LDL-C), colesterolo da lipoproteina ad alta densità (HDL-C), colesterolo non-HDL (non-HDL-C), trigliceridi totali (TG), apolipoproteina B100 (apoB), apolipoproteina AI (apoA), lipoproteina(a) (Lp(a)), alanina-aminotransferasi (ALT), aspartato-aminotransferasi (AST), ISE [calcolato come $8 \times (\text{rapporto AST/ALT}) + \text{BMI} (+2 \text{ se femina} +2 \text{ se diabete mellito})$] e creatina fosfochinasi (CPK). TC, HDLC, TG, apoB, apoA, Lp(a), ALT, AST e CPK sono stati misurati con metodi di laboratorio standard, mentre il

livello plasmatico di LDL-C è stato stimato utilizzando la formula di Friedewald ($\text{LDL-C} = \text{TC} - \text{HDL-C} - \text{TG}/5$), e quello di colesterolo non-HDL con la semplice differenza dal TC ($\text{non-HDL-C} = \text{TC} - \text{HDL-C}$). Le caratteristiche basali dei pazienti sono riportate nella tabella 1. L'intero studio è stato eseguito nell'ambito della prassi clinica quotidiana dei centri di studio coinvolti, in accordo con le norme interne dei centri, e in linea con i principi espressi nella Dichiarazione di Helsinki (raccomandazioni per guidare i medici in ricerche biomediche che coinvolgono soggetti umani). Tutti i soggetti coinvolti nello studio hanno dato il consenso informato scritto per partecipare allo studio. I dati sono stati inseriti in un database *ad hoc* e sono stati analizzati con l'utilizzo di SPSS 11.0, versione per Windows. È stata eseguita un'analisi descrittiva completa di tutti i parametri studiati (range, media, deviazione

Tabella 1 – Caratteristiche basali dei pazienti arruolati nello studio

	SOLO DIETA		DIETA + NUTRACEUTICO IPOLIPEMIZZANTE	
	Media	DS	Media	DS
Età (Anni)	55,4	9,2	54,9	9,5
PAS (mmHg)	122,2	10,5	124,9	12,3
PAD (mmHg)	75,4	7,5	76,7	10,2
CT (mg/dL)	257,8	10,5	262,2	8,2
TG (mg/dL)	229,4	15,6	228,9	16,1
HDL-C (mg/dL)	47,7	9,1	49,8	11,7
LDL-C (mg/dL)	144,8	10,9	147,8	11,5
Non-HDL (mg/dL)	212,9	11,8	209,4	12,6
FPG (mg/dL)	89,3	11,4	88,7	12,2
AST (mg/dL)	25,5	4,9	24,7	5,3
ALT (mg/dL)	26,2	5,2	25,6	5,7
ISE	35,9	2,1	36,3	1,8
CPK (U/L)	96,9	19,7	99,2	18,2

PAS = Pressione arteriosa sistolica, PAD = Pressione arteriosa diastolica, CT = Colesterolo totale, TG= Trigliceridi, HDL-C = Colesterolo legato a lipoproteine ad alta densità, LDL-C = Colesterolo legato a lipoproteine a bassa densità, FPG = Glicemia a digiuno, ALT = Alanina-aminotransferasi, AST = Aspartato-aminotransferasi, ISE = Indice di Steatosi Epatica, CPK = Creatina fosfochinasi

standard, errore standard della media, Kurtosis, Skewness), seguita dal test di normalità Kolmogorov-Smirnov.

L'analisi comparativa è stata eseguita con l'applicazione del test ANOVA seguito dal test *post-hoc* di Tukey per valutare le modifiche correlate al trattamento. Inoltre si è eseguita un'analisi multivariata per valutare se il cambiamento dell'ISE fosse correlato alle modifiche dei lipidi plasmatici. È stato considerato significativo in tutti i test un valore $p < 0,05$.

Risultati

Le modifiche dei parametri valutati tra l'inizio e la fine dello studio sono riportati nella Tabella 2. Rispetto ai valori basali, dopo 8 settimane, entrambi i gruppi hanno evidenziato un miglioramento del profilo lipidico plasmatico. Ciò nonostante, per ogni parametro, i soggetti che hanno ricevuto in aggiunta il nutraceutico hanno dimostrato un risultato migliore, cioè una riduzione più marcata del CT (-41,2% vs. -29,1%), del LDL (-35,8% vs. -21,4%); ma è soprattutto nel valore dei TG che si

è rilevato il miglioramento più consistente in confronto al gruppo sottoposto alla sola gestione dietetica (-50,1% vs. -19,1%). In più, nei soggetti che hanno ricevuto il nutraceutico si è osservato anche un miglioramento più marcato dei livelli di HDL (+2,1% vs. +0,4%). Globalmente, l'aggiunta per 8 settimane di un nutraceutico ipolipemizzante alla gestione dietetica, si è dimostrata in grado di indurre un beneficio maggiore nella riduzione della steatosi epatica, valutata tramite un indice validato di NAFLD, come testimonia una riduzione pari a -1,3% nell'ISE rispetto al -0,5% osservato nei soggetti che hanno ricevuto soltanto consigli dietetici. Le variazioni nei livelli di FPG, ALT, AST e CPK non sono state significative.

Discussione

Nonostante i meccanismi relativi alla fisiopatologia della NAFLD siano documentati, per quanto riguarda invece la sua gestione, tuttora nessuna terapia scientificamente validata esiste¹⁷. Generalmente, il trattamento viene adattato a ciascun paziente

Tabella 2 – Confronto degli effetti dopo 8 settimane di trattamento tra Sola Dieta vs. Dieta + Nutraceutico Ipolipemizzante

	SOLO DIETA			DIETA + NUTRACEUTICO IPOLIPEMIZZANTE		
	Variatione media	DS	<i>p</i>	Variatione media	DS	<i>p</i>
Delta CT (mg/dL)*	-29,1	3,5	<0,001	-41,2	1,8	<0,001
Delta TG (mg/dL)*	-19,1	2,9	<0,001	-50,1	4,8	<0,001
Delta HDL-C (mg/dL)*	+0,4	1,2	0,132	+2,1	0,7	<0,001
Delta LDL-C (mg/dL)	-21,4	4,6	<0,001	-35,8	2,1	<0,001
Delta FPG (mg/dL)	+0,1	4,8	0,964	-0,9	6,9	0,732
Delta AST (mg/dL)	-1,1	5,8	0,549	-1,5	3,3	0,388
Delta ALT (mg/dL)	+1,3	4,3	0,584	-1,6	2,9	0,098
Delta ISE 3*	-0,5	1,6	0,239	-1,3	0,9	0,038
Delta CPK (U/L)	+2,2	9,1	0,338	+2,9	9,9	0,369

* $p < 0,05$ per il confronto Solo Dieta vs Dieta + Nutraceutico ipolipemizzante (ANCOVA)

CT = Colesterolo totale, TG = Trigliceridi, HDL-C = Colesterolo legato a lipoproteine ad alta densità, LDL-C = Colesterolo legato a lipoproteine a bassa densità, FPG = Glicemia a digiuno, ALT = Alanina-aminotransferasi, AST = Asparato-aminotransferasi, ISE = Indice di Steatosi Epatica, CPK = Creatina fosfochinasi

singolarmente con, in comune, raccomandazioni dietetiche e programmi indirizzati alla perdita di peso, al fine di ridurre l'obesità addominale. Considerando però che, nella maggior parte dei casi, tale gestione non è sufficiente per controllare la malattia e, d'altra parte, che una terapia farmacologica vera e propria potrebbe non essere consigliabile o necessaria ancora, noi abbiamo valutato - come un livello "intermedio" di gestione - un nutraceutico composto da sostanze note per l'azione lipido-riduttrice. Secondo i risultati dei parametri lipidici osservati, dopo un trattamento a breve termine i soggetti sottoposti al nutraceutico hanno dimostrato un miglioramento dei livelli plasmatici dei lipidi. Ciò ha portato anche ad una riduzione dell'accumulo dei lipidi epatici, con una riduzione dell'ISE pari a -1,3%. Nello stesso arco di tempo, invece, nei soggetti che hanno seguito soltanto una gestione dietetica della malattia, pur dimostrando anche loro un miglioramento del profilo lipidico, l'abbassamento dell'ISE è stato di meno della metà (-0,5%). Tale risultato si può spiegare analizzando i numerosi componenti potenzialmente attivi sulla NAFLD contenuti nel nutraceutico sperimentato. I principali sono i PUFA, non sintetizzabili dal corpo umano, il cui fabbisogno deve essere fornito dalla dieta, in particolare da oli vegetali e di pesce.

Infatti, tra le varie cause implicate nella patogenesi multifattoriale della NAFLD sembra che una potesse essere la deficit di PUFA, che ha un ruolo particolare nella genesi dell'insulino-resistenza¹⁸. I primi risultati circa la supplementazione con omega-3 in NAFLD testata prima in modelli murini¹⁹ e successivamente in soggetti umani, come riportato da Capanni et al.²⁰ e Spadaro²¹, sono incoraggianti e dimostrano una netta riduzione della steatosi epatica. Tale effetto positivo è dovuto alla capacità dell'omega-3 di regolare la trascrizione di geni epatici, interagendo con le proteine nucleo-recettori coinvolte nel metabolismo dei carboidrati e dei lipidi²². Le principali sono il recettore alfa attivato dai proliferatori perossisomiali (PPARs)²³ e la proteina-1 che lega gli elementi regolatori dello sterolo (SREBP-1)²⁴. Un deficit di PUFA porta ad un upregulation (aumento) di SREBP-1 e ad una compromissione dell'attività di PPARs nel fegato, il cui effetto globale è una riduzione del catabolismo lipidico, una maggiore produzione endogena dei lipidi e un uptake epatico più alto degli acidi grassi liberi in circolazione^{25,26}, correggibile con una supplementazione esogena con i PUFA. È già ben noto infatti come anche le mona-

coline da *Monascus purpureus* siano in grado di migliorare significativamente la colesterolemia e, sebbene i policosanoli da soli sembrerebbero incapaci di migliorare il quadro lipidico, in uno studio precedente del nostro gruppo, l'associazione di monacoline e policosanoli è sembrata essere tanto efficace quanto un basso dosaggio di pravastatina nel ridurre la colesterolemia²⁷. Nella stessa pillola c'era anche il resveratrolo, un antiossidante naturale dall'uva che ha ampiamente dimostrato di avere effetti antisteatosi in modelli animali^{28,29}. Poi la L-Carnitina³⁰, tramite la sua azione sui mitocondri³¹, e la vitamina B12³², dimostrata di essere presente in minor quantità nei pazienti con NAFLD rispetto ai controlli, potrebbero aver contribuito ad abbassare l'ISE. Inoltre, tutti i pazienti hanno tollerato bene il trattamento, con nessuna reazione avversa riscontrata.

Le limitazioni principali del presente studio sono rappresentate dal numero relativamente ristretto di partecipanti e dal fatto che non abbiamo potuto confrontare i risultati ottenuti dai due gruppi con un gruppo di controllo trattato con placebo. Infine, i cambiamenti nella steatosi epatica sono stati soltanto stimati tramite un indice validato e non confermati con ecografia *in vivo*. In conclusione, in questo studio preliminare, il composto nutraceutico sperimentato ha migliorato significativamente il quadro globale lipidico rispetto ad una sola dieta corretta. Inoltre ha avuto un effetto migliorativo anche sugli indicatori indiretti della steatosi epatica. Considerata l'alta tollerabilità al trattamento, la scelta di usare un nutraceutico potrebbe essere proponibile come opzione intermedia di trattamento dei pazienti il cui controllo metabolico non sia sufficientemente migliorato con i soli consigli dietetici ma che non necessitano, o per i quali non sia consigliabile intraprendere, una terapia farmacologica.

Ringraziamenti

I dati riportati sono stati raccolti nell'ambito dell'attività di ricerca istituzionale dell'Unità di Ricerca dell'Università di Bologna.

Dichiarazione dei conflitti di interesse

Non esistono conflitti di interesse.

Bibliografia

- 1 Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*, 2004, 40:1387–1395
- 2 Angulo P. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *Nutr Rev*, 2007;65:S57–S63
- 3 Reddy, J.K. and Rao, M.S. (2006). Lipid metabolism and liver inflammation. II. Fatty liver disease and fatty acid oxidation. *American Journal of Physiology, Gastrointestinal and Liver Physiology*, 290(5):G852-8.
- 4 Wree, A., Kahraman, A., Gerken, G. and Canbay, A. (2011) Obesity affects the liver - the link between adipocytes and hepatocytes. *Digestion*, 83(1-2):124-33.
- 5 Hamaguchi, M., Kojima, T., Takeda, N., Nakagawa, T., Taniguchi, H., Fujii, K., Omatsu, T., Nakajima, T., Sarui, H., Shimazaki, M., Kato, T., Okuda, J. and Ida, K. (2005) The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Annals of Internal Medicine* 143: 722–8.
- 6 Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, et al. The natural history of non-alcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*, 2005, 129:113–21.
- 7 Tarantino G, Caputi A. JNKs, insulin resistance and inflammation: A possible link between NAFLD and coronary artery disease. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(33):3785-94
- 8 Gaudio E, Nobili V, Franchitto A, Onori P, Carpino G. Nonalcoholic fatty liver disease and atherosclerosis. *Intern Emerg Med*. 2012 Oct;7 Suppl 3:297-305. doi: 10.1007/s11739-012-0826-5.
- 9 Seo HI, Cho YK, Lee WY, and al. Which metabolic syndrome criteria best predict the presence of non-alcoholic fatty liver disease? *Diabetes Res Clin Pract*, 2012, 95(1):19-24.
- 10 Kleiner DE, Brunt EM, Van NM, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 2005, 41:1313–1321.
- 11 Angulo P, Hui JM, Marchesini G, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*, 2007, 45:846–854
- 12 Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. Systematic review: the diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment. Pharmacol. Ther*, 2011, 33: 525–540
- 13 Lee, J.H., Kim, D., Kim, H.J., Lee, C.H., Yang, J.I., Kim, W., Kim, Y.J., Yoon, J.H., Cho, S.H., Sung, M.W. and Lee, H.S. (2010) Hepatic steatosis index: a simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Digestive and Liver Disease*.42(7):503-8.
- 14 Cicero AFG, D'Addato S, Reggi A, Marchesini Reggiani G, Borghi C, on behalf of the Brisighella Heart Study. Hepatic Steatosis Index and Lipid Accumulation Product as middle-term predictors of incident metabolic syndrome in a large population sample: data from the Brisighella Heart Study. *Internal and Emergency Medicine* 2012; In press
- 15 Polyzos, S.A., Kountouras, J., Zavos, C. and Deretzi, G.(2012) Nonalcoholic fatty liver disease: multimodal treatment options for a pathogenetically multiple-hit disease. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 46(4):272-84.
- 16 Gossard, A.A. and Lindor, K.D. (2011) Current therapies for nonalcoholic fatty liver disease. *Drugs of Today*, 47(12):915-22.
- 17 Moseley RH. Therapy for nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 332–5.
- 18 Storlien LH, Baur LA, Kriketos AD, et al. Dietary fats and insulin action. *Diabetologia* 1996; 39: 621–31.
- 19 Alwayn IP, Gura K, Nose V, et al. Omega-3 fatty acid supplementation prevents hepatic steatosis in a murine model of nonalcoholic fatty liver disease. *Pediatr Res* 2005;57:445–52.
- 20 Capanni M, Calella F, Biagini MR, Genise S, Raimondi L, Bedogni G, Svegliati-Baroni G, Sofi F, Milani S, Abbate R, Surrenti C, Casini A. Prolonged n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation ameliorates hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a pilot study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006 Apr 15;23(8):1143-51.
- 21 Spadaro L, Magliocco O, Spampinato D, et al. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 194–9.
- 22 Jump DB. N-3 polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *Curr Opin Lipidol* 2008; 19: 242–7
- 23 Jump DB, Botolin D, Wang Y, Xu J, Demeure O, Christian B. Docosahexaenoic acid (DHA) and hepatic gene transcription. *Chem Phys Lipids* 2008; 153: 3–13.
- 24 Shimano H, Horton JD, Shimomura I, Hammer RE, Brown MS, Goldstein JL. Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells. *J Clin Invest* 1997; 99: 846–54.
- 25 Clarke SD. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. I. Molecular mechanism for polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G865–9.
- 26 Ip E, Farrell G, Hall P, Robertson G, Leclercq I. Administration of the potent PPARα agonist, Wy-14,643, reverses nutritional fibrosis and steatohepatitis in mice. *Hepatology* 2004; 39: 1286–96.
- 27 Cicero AFG, Brancaloni M, Laghi L, Donati F, Mino M. Antihyperlipidaemic effect of a *Monascus purpureus* brand dietary supplement on a large sample of subjects at low risk for cardiovascular disease: a pilot study. *Complementary Therapy in Medicine (Complem Ther Med)* 2005; 13(4): 273-278
- 28 Xin P, Han H, Gao D, Cui W, Yang X, Ying C, Sun X, Hao L. Alleviative effects of resveratrol on nonalcoholic fatty liver disease are associated with up regulation of hepatic low density lipoprotein receptor and scavenger receptor class B type I gene expressions in rats. *Food Chem Toxicol*. 2012 Nov 2. doi:p11: S0278-6915(12)00771-5. 10.1016/j.fct.2012.10.026.
- 29 Gómez-Zorita S, Fernández-Quintela A, Macarulla MT, Aguirre L, Hijona E, Bujanda L, Milagro F, Martínez JA, Portillo MP. Resveratrol attenuates steatosis in obese Zucker rats by decreasing fatty acid availability and reducing oxidative stress. *Br J Nutr*. 2012 Jan; 107(2):202-10.
- 30 Kang JS, Lee WK, Yoon WK, Kim N, Park SK, Park HK, Ly SY, Han SB, Yun J, Lee CW, Lee K, Lee KH, Park SK, Kim HM. A combination of grape extract, green tea extract and L-carnitine improves high-fat diet-induced obesity, hyperlipidemia and non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Phytother Res*. 2011 Dec;25(12):1789-95. doi: 10.1002/ptr.3476.
- 31 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. *Korean J Gastroenterol*. 2010 Jun;55(6):384-9.
- 32 Koplay M, Gulcan E, Ozkan F. Association between serum vitamin B12 levels and the degree of steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Investig Med*. 2011 Oct;59(7):1137-40.

