

**LA SINDROME EPATO-SURRENALICA
DELLA CIRROSI EPATICA**

Dott.^{ssa} Luisa Spadaro

INDICE

Introduzione.....	2
Insufficienza surrenalica nei pazienti con malattie epatiche acute	4
La funzione surrenalica nella cirrosi stabile (Allegato 1).....	6
Patogenesi della sindrome epato-surrenalica (Allegato 2)	12
Approccio multistep per lo studio della funzione surrenalica nella cirrosi epatica (Allegato 3)	19
Terapia sostitutiva della sindrome epato-surrenalica (Allegato 4).....	24
Cortisolo totale, cortisolo free e i suoi markers surrogati nella sindrome epato- surrenalica (Allegato 5).....	26
Insufficienza surrenalica nella cirrosi epatica: Revisione della letteratura (Allegato 6)	31
Bibliografia	33

Introduzione

La cirrosi epatica è una causa di morbidità e mortalità in crescente aumento nei paesi industrializzati, la quarta causa di morte in Europa. Le cause principali di cirrosi sono le infezioni da virus C, l'abuso di alcol e la NAFLD (non-alcoholic fatty liver disease) nei paesi industrializzati, mentre il virus epatitico B è la causa più comune di cirrosi nell'Africa sub-sahariana e nella gran parte dell'Asia. Oggi la cirrosi epatica può essere considerata come una patologia sistemica che impegna vari organi e apparati. E' noto infatti che nelle fasi avanzate della malattia possono manifestarsi complicanze a carico del rene (sindrome epato-renale), a carico del miocardio (miocardiopatia cirrotica), a carico del polmone (sindrome epato-polmonare). Recentemente è stato inoltre descritto anche il coinvolgimento della ghiandola surrenalica definito come "sindrome epato-surrenalica" ⁽¹⁾.

Il progetto di ricerca svolto durante il periodo di dottorato è stato incentrato sullo studio della funzione surrenalica nella cirrosi stabile. Infatti in questo campo i dati a nostra disposizione fino a pochi anni addietro erano scarsi e parzialmente conclusivi. In particolare, poco era noto riguardo

la prevalenza dell'insufficienza surrenalica nella cirrosi epatica stabile, e non era chiaro se l'insufficienza surrenalica riscontrata nei pazienti epatopatici con eventi acuti (come sepsi e/o shock) fosse correlata all'evento acuto oppure risultasse alterata già nelle fasi di compenso della malattia epatica. Inoltre non vi erano dati riguardanti la patogenesi della sindrome epato-surrenalica in questi pazienti, né risulta a tutt'oggi chiaro il test da applicare in questa popolazione, e poco è noto sulla eventuale trattamento di questa sindrome.

Durante questi anni il nostro gruppo di ricerca ha prodotto importanti studi che hanno permesso di chiarire alcuni di questi aspetti.

La nostra ricerca è stata svolta in collaborazione con il Professore Andrew Burroughs presso il Royal Free Sheila Sherlock Liver Centre di Londra, e in collaborazione con il professore Maurizio Aversa presso il Dipartimento di Medicina Interna dell'Università degli Studi di Palermo.

Nella sezione "Allegati" riportiamo gli articoli pubblicati durante il dottorato di ricerca.

Insufficienza surrenalica nei pazienti con malattie epatiche acute

Negli ultimi anni diversi studi hanno messo in evidenza che l'insufficienza surrenalica è frequente in pazienti con insufficienza epatica acuta o pazienti con epatopatia cronica in corso di eventi acuti, quali shock, sepsi ed è associata ad una maggiore mortalità .

Harry et al. hanno studiato la funzione surrenalica in 45 pazienti con insufficienza epatica acuta ricoverati in terapia intensiva, utilizzando il test di stimolo con 250 o Short Synacthen Test (SST). L'insufficienza surrenalica, riscontrata nel 62% dei pazienti studiati, correlava con la gravità dell'insufficienza epatica, ed è stata associata ad una maggiore instabilità emodinamica e ad una prognosi peggiore ^(2). Marik et al. hanno studiato retrospettivamente la funzione surrenalica in 340 pazienti ricoverati presso la terapia intensiva del centro trapianti di fegato dell'Università di Pittsburgh, utilizzando il test di stimolo con 1 µg di corticotropina o Low Dose Short Synacthen Test (LDSST). L'insufficienza surrenalica è stata riscontrata nel 33% dei pazienti con epatite acuta fulminante, nel 66% dei pazienti con epatopatia cronica, nel 61% dei

pazienti con pregresso trapianto di fegato e nel 92% dei pazienti che avevano recentemente subito un trapianto di fegato e non avevano praticato terapia immuno-soppressiva steroidea ⁽³⁾. Gli stessi autori coniarono il termine di “Sindrome epato-surrenalica” per descrivere l’Insufficienza surrenalica in corso di epatopatie acute e croniche, ritenendo che la disfunzione surrenalica era causata dalla malattia epatica di base e non dall’evento acuto (sepsi e/o shock). In un altro studio condotto su 101 pazienti cirrotici con sepsi sottoposti allo SST, è stata riscontrata una elevata prevalenza di insufficienza surrenalica (52%). L’insufficienza surrenalica è risultata associata ad instabilità emodinamica, insufficienza renale e aumentata mortalità ⁽⁴⁾.

Infine nello studio di Fernandez et al. che includeva 25 pazienti cirrotici con sepsi, è stata riportata una prevalenza di insufficienza surrenalica del 68%. L’insufficienza surrenalica era più frequente nei pazienti con malattia epatica più grave (Child C di Pugh 76% vs Child B di Pugh 25%) ⁽⁵⁾.

La funzione surrenalica nella cirrosi stabile (Allegato 1)

I dati di letteratura fin qui riportati confermano che i pazienti cirrotici hanno un'elevata prevalenza di disfunzione surrenalica in corso di eventi acuti. Tuttavia, i dati riguardanti i cirrotici stabili senza eventi acuti sono scarsi e parzialmente conclusivi.

J.A. McDonald et al. hanno studiato 38 cirrotici in fase avanzata di malattia epatica ed in attesa di trapianto epatico urgente, utilizzando il test all'ipoglicemia insulino-indotta allo scopo di studiare l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, e li hanno confrontati con un gruppo di controllo sano. Un sottogruppo di pazienti sono stati sottoposti anche al test di stimolo all'ACTH. In questa casistica è stata evidenziata una riduzione del picco massimo di cortisolo plasmatico nel 64% sottoposti al test all'ipoglicemia e nel 31% dei pazienti sottoposti al test all'ACTH. Tali autori concludono che nella cirrosi epatica in fase avanzata esiste uno stato di insufficienza funzionale del surrene dovuto ad un difetto centrale nella regolazione ipotalamo-ipofisaria ⁽⁶⁾.

Questi dati trovano conferma in uno studio successivo effettuato su 52 cirrotici di sesso maschile, in cui è stato studiato l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. In questi pazienti è stato dosato l'ACTH e il cortisolo, in condizioni basali e dopo

stimolo con CRH (Corticotropin-releasing hormone). I livelli di ACTH basali e dopo stimolo sono risultati sovrapponibili nei cirrotici e nei controlli, anche se nei cirrotici in classe C di Child sono stati rilevati valori lievemente inferiori dopo stimolo. Anche i livelli di cortisolo basale sono risultati sovrapponibili nelle tre classi di Child, mentre i valori di cortisolo dopo stimolo risultavano più bassi nelle classi di B e C di Child.

Nella valutazione della funzione surrenalica della cirrosi stabile un importante contributo è stato dato anche dal nostro gruppo di ricerca.

Il nostro primo studio è stato condotto in collaborazione con il professore Andrew Burroughs presso il Royal Free Sheila Sherlock Liver Centre di Londra. L'obiettivo è stato quello di valutare la riserva funzionale del surrene in pazienti con cirrosi epatica non complicata da sepsi o instabilità emodinamica, per stabilire se la funzione surrenalica negli epatopatici cronici fosse alterata già nelle prime fasi di malattia e se tale alterazione diventasse più grave con l'avanzare della malattia epatica, fino a diventare essa stessa cofattore nella patogenesi di alcune complicanze della cirrosi epatica.

Pazienti e metodi

Per questo studio sono stati arruolati prospetticamente 101 pazienti cirrotici consecutivi, presso il nostro dipartimento di Medicina Interna dell'Ospedale "Garibaldi" di Catania ed il Royal Free Sheila Sherlock Liver Centre di Londra. I pazienti con segni di infezioni o sepsi, peritonite batterica spontanea o segni di instabilità emodinamica (pressione arteriosa ≤ 60 mmHg o necessità di utilizzo di vasopressori), sono stati esclusi dalla studio. Sono stati inoltre esclusi dallo studio i pazienti con precedente diagnosi di disturbi dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, e i pazienti che avevano assunto terapia corticosteroidea negli ultimi sei mesi. La riserva surrenalica è stata studiata entro 24 dal ricovero, utilizzando il LDSST. L'insufficienza surrenalica è stata definita da un cortisolo inferiore a 18 $\mu\text{g/dl}$ (494 nmol/l) dopo 20 o 30 minuti dall'infusione endovenosa di corticotropina.

Risultati

Le caratteristiche cliniche sono riportate nella tabella 2. L'insufficienza surrenalica è stata riscontrata in 38/101 (38%) pazienti, con prevalenza maggiore con l'aumentare della gravità della malattia epatica (Child-pugh score: $p < 0.0001$, MELD

score: $p < 0.0001$), e al peggiorare degli indici di funzionalità epatica (presenza di ascite $p < 0.01$, INR $p < 0.001$; bilirubina totale $p < 0.05$) (tabella 2).

La curva ROC ha evidenziato che un cortisolo basale < 354 nmol/L discriminava i pazienti con e senza insufficienza surrenalica con buona accuratezza diagnostica (sensibilità 90%; specificità 62%; c-value 0.79).

All'analisi multivariata con la regressione logistica, il cortisolo basale è risultato fattore di rischio indipendente per la presenza di insufficienza surrenalica ($p < 0.001$), indipendentemente dal Child-Pugh score, dal MELD score, dalla presenza di ascite, dall'albumina, dall'INR, dalla bilirubina totale.

Conclusioni

I nostri dati documentano che nella cirrosi epatica, anche in assenza di infezioni gravi o instabilità emodinamica, vi è una elevata prevalenza di insufficienza surrenalica diagnosticata con il LDSST, e che tale prevalenza aumenta con il progredire della gravità della malattia epatica. Questi dati sono in linea con studi precedentemente condotti in pazienti con epatopatie acute o croniche complicate da eventi acuti. Tuttavia, contrariamente agli altri dati presenti in letteratura, in cui la

funzione surrenalica è stata studiata in pazienti con insufficienza epatica acuta o in pazienti con epatopatia cronica complicata da eventi acuti, il nostro studio valuta un'ampia casistica di pazienti con cirrosi epatica stabile, e i nostri dati suggeriscono quindi che la cirrosi epatica di per sé si associa ad una ridotta insufficienza surrenalica. Tale condizione, che da alcuni autori è stata designata con il termine "Sindrome epato-surrenalica", non si manifesta con segni o sintomi di iposurrenalismo, ma esiste come una condizione sub-clinica sottostante la malattia epatica di base. In occasione di eventi scatenanti, come infezioni gravi o gravi turbe emodinamiche (eventi assai comuni nei pazienti cirrotici), questa condizione sub-clinica potrebbe manifestarsi come incapacità del surrene a secernere adeguate quantità di cortisolo rispetto alle aumentate esigenze dell'organismo. Nell'analisi multivariata il cortisolo basale è risultato l'unico fattore di rischio indipendente per la presenza di insufficienza surrenalica. Inoltre utilizzando la curva ROC un cortisolo basale < 354 nmol/l è risultato un valore soglia dotato di buona accuratezza diagnostica. Alla luce di questi risultati il dosaggio di cortisolo basale nei pazienti cirrotici si potrebbe utilizzare come metodo di screening per individuare i pazienti ad alto rischio per ridotta riserva

funzionale surrenalica, e suscettibili di ulteriori indagini diagnostiche (come il test di stimolo all'ACTH). Riteniamo che questo studio abbia mostrato chiaramente che l'insufficienza surrenalica rappresenti una nuova problematica correlata alla cirrosi epatica che necessita di ulteriori approfondimenti. Servono ulteriori studi per chiarire quale importanza rivesta la presenza di disfunzione surrenalica nell'outcome dei pazienti cirrotici, e se sia plausibile praticare terapia suppletiva con corticosteroidi nei pazienti cirrotici con insufficienza surrenalica che abbiano un evento acuto intercorrente.

Patogenesi della sindrome epato-surrenalica (Allegato 2)

La relazione tra fegato e surrene è complessa e a tutt'oggi non ancora chiarita. Diversi meccanismi patogenetici sono stati proposti per spiegare lo sviluppo della sindrome epatosurrenalica, tra questi un ruolo sembra essere svolto dalla carenza di substrati per la steroidogenesi oltre che ad un danno sull'asse ipotalamo-ipofisi-surrene dovuto alle citochine infiammatorie, dimostrate elevate nella cirrosi epatica. E' stato inoltre ipotizzato che anche danni emorragici all'interno della ghiandola surrenalica secondari ai deficit emocoagulativi caratteristici della cirrosi epatica possano essere coinvolti. La sintesi degli ormoni glucocorticoidi ha come sub-strato il colesterolo, ed un costante apporto di colesterolo è richiesto a livello surrenalico per la sua conversione ad ormoni steroidei⁽⁷⁾. La tappa limitante per la steroidogenesi è il passaggio di colesterolo non esterificato dentro il mitocondrio dove può essere metabolizzato attraverso il CYP11A1 nel pathway della steroidogenesi⁽⁸⁾. Il colesterolo non esterificato deriva da tre differenti sorgenti: 1) sintesi intracellulare de novo; 2) esteri del colesterolo derivati dalle lipoproteine circolanti; 3) mobilitazione di riserve di esteri del

colesterolo⁽⁹⁾. E' noto che circa l'80% del colesterolo è recuperato dal circolo ematico, mentre il 20% è sintetizzato a livello surrenalico a partire dall'acetato e altri precursori. Il colesterolo è presente in circolo legato a varie lipoproteine. Studi precedenti hanno dimostrato che le cellule surrenali di ratto e di topo possono utilizzare sia le LDL che le HDL come sorgente di lipoproteine, anche se l'HDL risultava significativamente più efficace nell'apporto di colesterolo per l'accumulo di esteri del colesterolo e produzione di corticosterone^(8,9,10). Studi sperimentali più recenti suggeriscono che l'uptake selettivo di HDL è il pathway più importante da cui le cellule surrenali acquisiscono colesterolo, a sostegno di questa ipotesi vi è anche il dato che in un modello di ratto knock-out per il recettore delle LDL la produzione di ormoni steroidei surrenalici è risultata normale⁽¹¹⁾. Inoltre, un altro studio sperimentale recente ha dimostrato che mentre in condizioni basali sia l'HDL che le LDL contribuiscono alla normale steroidogenesi surrenalica, il colesterolo delle HDL e non delle LDL è fondamentale per la risposta allo stress, supportando l'ipotesi che l'HDL è principalmente utilizzato sotto condizioni di elevata pressione steroidogenica⁽¹²⁾.

Le Apolipoproteine A-1 (Apo-A1) costituiscono la componente

proteica più importante delle HDL, e sono sintetizzate principalmente a livello epatico, ed in quota minore a livello intestinale e l'Apolipoproteina A-I è risultata essere essenziale per l'accumulo di colesterolo nelle cellule steroideogeniche e per la normale produzione di steroidi surrenalici ⁽¹²⁾. L'ipocolesterolemia è un fenomeno noto del paziente cirrotico, Cicognani et al. hanno dimostrato una diminuzione dei livelli di HDL nella cirrosi epatica correlata alla gravità dell'epatopatia (classificata con la classe di Child) (13). I livelli di colesterolo totale sono risultati predire la prognosi a lungo termine nei pazienti con cirrosi scompensata. Inoltre in uno studio di Marik e collaboratori eseguito in pazienti ricoverati in terapia intensiva epatologica all'analisi multivariata i livelli di HDL sono risultati predittori di insufficienza surrenalica supportando l'ipotesi che la carenza di substrati possa essere uno dei meccanismi responsabili del deficit surrenalico in questi pazienti. Nonostante l'ipocolesterolemia sia un fenomeno noto del paziente con cirrosi epatica, pochi studi hanno valutato le varie frazioni di lipoproteine ed le apolipoproteine e a tutt'oggi nessuno studio ha valutato la loro relazione con la riserva surrenalica. Pertanto allo scopo di valutare l'importanza funzionale delle lipoproteine nella steroidogenesi dei pazienti

con cirrosi epatica, abbiamo valutato i livelli di lipoproteine in un gruppo di soggetti cirrotici e in un gruppo di soggetti sani matched per sesso ed età e li abbiamo correlati alla produzione di cortisolo basale e ACTH-indotta.

Pazienti e metodi

Per questo studio sono stati arruolati prospetticamente pazienti affetti da cirrosi epatica afferenti al Dipartimento di Medicina Interna dell'Ospedale Garibaldi di Catania. I pazienti con segni di infezioni o sepsi, peritonite batterica spontanea o segni di instabilità emodinamica (pressione arteriosa ≤ 60 mmHg o necessità di utilizzo di vasopressori), sono stati esclusi dalla studio. Sono stati inoltre esclusi dallo studio i pazienti con precedente diagnosi di disturbi dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, e i pazienti che avevano assunto terapia corticosteroidica negli ultimi sei mesi. Sono stati inoltre esclusi dallo studio i pazienti che facevano uso di farmaci noti per influenzare le lipoproteine plasmatiche (statine, fibrati). Sono stati esclusi dallo studio anche i pazienti con cirrosi biliare primitiva e colangite sclerosante. I soggetti di controllo sono stati reclutati da un gruppo di volontari sani.

Risultati

Il colesterolo totale, LDL, HDL e i livelli di Trigliceridi sono risultati significativamente ridotti nei pazienti con cirrosi comparati ai controlli ($p < 0.01$ per tutte le variabili). La riduzione delle lipoproteine è risultata correlata con la gravità della malattia epatica valutata con lo score di Child. Allo stesso modo, i livelli di Apo AI sono risultati significativamente più bassi nel gruppo dei cirrotici e correlati alla gravità della malattia epatica. I pazienti con sindrome epato-surrenalica hanno mostrato livelli ridotti di Colesterolo totale, di trigliceridi, di HDL e di ApoI. I livelli di ApoI sono risultati correlati con il picco di cortisolo ($p < 0.05$) e con il delta cortisolo ($p < 0.001$). All'analisi di regressione logistica l'ApoAI e i livelli di HDL sono risultati associati alla presenza di sindrome epato-surrenalica indipendentemente dalla gravità della malattia epatica.

Conclusioni

I nostri dati hanno contribuito a chiarire un importante aspetto patogenetico della sindrome epato-surrenalica. Il nostro studio conferma infatti che il deficit di substrati nei pazienti con cirrosi

epatica rappresenta uno dei meccanismi patogenetici che spiegano il deficit di riserva surrenalica in questi pazienti. I dati di letteratura riguardanti il profilo lipidico dei pazienti con sindrome epatosurrenalica risultavano discordanti. Marik et al. Avevano mostrato che il livelli di HDL risultavano predittori di insufficienza surrenalica nei pazienti con malattia epatica acuta ricoverati in terapia intensiva. Un altro studio in pazienti con malattia epatica acuta non mostrava differenze differenze nel profilo lipidico tra i pazienti con sindrome epatosurrenalica e non. Nel nostro studio, l'analisi di regressione logistica costruita con i livelli di lipoproteine, lo score prognostico e fattori biochimici ha rivelato che i livelli di ApoI e di HDL sono correlati indipendentemente con la presenza di sindrome epato-surrenalica.

E' chiaro che altri meccanismi potrebbero essere implicati nello sviluppo della sindrome epato-surrenalica, che a nostro avviso può essere considerata multifattoriale.

Pertanto servono sicuramente studi di approfondimento riguardanti la patogenesi, ma anche l'influenza sulla prognosi della prognosi della cirrosi epatica da parte della sindrome epato-surrenalica. Sarebbe inoltre auspicabile lo studio dell'eventuale effetto della terapia sostitutiva la funzione surrenalica in questi

pazienti che risultano carenti di ormoni corticosteroidi.

Approccio multistep per lo studio della funzione surrenalica nella cirrosi epatica (Allegato 3)

Il meccanismo che porta alla disfunzione surrenalica nella cirrosi epatica non è noto. Non è noto inoltre se nei pazienti cirrotici ci sia una alterazione struttura dei surreni (insufficienza primitiva) oppure una alterazione secondaria dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (insufficienza secondaria). In questo studio abbiamo affrontato questo problema utilizzando un approccio multistep per la diagnosi di insufficienza surrenalica nella cirrosi, in cui il primo test è stato il tradizionale LDSST. I secondo test, somministrato ai pazienti che erano risultati positivi al primo test, è stato il Long Synacthen Test (LST) con 1 mg di Synacthen depot.

Pazienti e metodi

Per questo studio prospettico osservazionale sono stati arruolati pazienti cirrotici consecutivamente ammessi presso il nostro Dipartimento di Medicina Interna dell'Ospedale Garibaldi di Catania ed il Royal Free Sheila Sherlock Liver Centre di Londra. I criteri di esclusione dallo studio sono stati:

infezioni o sepsi, peritonite batterica spontanea o segni di instabilità emodinamica (pressione arteriosa media < 60 mmHg o necessità di utilizzo di vasopressori), precedente diagnosi di disturbi dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, precedente terapia corticosteroidica negli ultimi sei mesi. La riserva surrenalica è stata studiata entro 24 ore dal ricovero, utilizzando il LDSST, ed il dosaggio basale di ACTH e CBG. I pazienti con diagnosi di disfunzione surrenalica al test di base sono stati sottoposti al LST.

Low Dose Short Synacthen Test: è stato praticato tra le 8 e le 9 del mattino a digiuno. I prelievi per il dosaggio del cortisolo sono stati effettuati in basale e dopo 20 e 30 minuti dall'infusione ev di 1 µg di Synacthen. L'insufficienza surrenalica è stata definita da un cortisolo dopo stimolo inferiore a 494 nmol/l. Inoltre in un sottogruppo di pazienti è stato dosato il cortisolo libero. Valori di cortisolo libero dopo stimolo inferiori a 33 nmol/L sono stati definiti anormali.

Long Synacthen Test: il test è stato somministrato almeno a distanza di 24 ore dal LDSST. I prelievi per il dosaggio del cortisolo sono stati effettuati in condizioni basali e a 30 minuti, 1 ora, 4 ore, 8 ore e 24 ore dalla somministrazione intramuscolare di 1 mg di Synacthen depot.

Nei soggetti normali il cortisolo raggiunge un valore superiore a 900 nmol/L nelle prime 4 ore dopo la somministrazione di ACTH depot, con successivi modesti incrementi. Nei pazienti con insufficienza surrenalica secondaria, in cui vi è un deficit di ACTH endogeno, si registra una risposta surrenalica ritardata, con un picco del cortisolo ritardato alle successive 24 dopo il test. Nei soggetti con insufficienza surrenalica primaria, in cui vi è una alterazione strutturale del surrene, non si ha una risposta adeguata in termini di cortisolemia, con valori costantemente inferiori a 900 nmol/L.

Risultati

Un totale di 121 pazienti sono stati sottoposti al LDSST, la prevalenza di insufficienza surrenalica è stata del 38% (46/121 pazienti).

Long Synacthen Test: il LST è stato praticato in 29 pazienti consecutivi in cui il LDSST era risultato anormale. Tra questi pazienti, 12/29 (41%) hanno evidenziato una risposta normale (Cortisolo > 900 nmol/L entro 4 ore (Gruppo I), 16/29 (55%) hanno evidenziato una risposta surrenalica ritardata (Cortisolo < 900 nmol/L a 4 ore ma superiore a 900 nmol/L entro 24 ore) (Gruppo 2). Solamente 1 paziente ha evidenziato una risposta

anormale (Cortisolo < 900 nmol/L entro 24 ore). Solo il cortisolo basale è stato differente nei due gruppi di pazienti. I valori basali di ACTH non sono risultati significativamente differenti tra i gruppi, e nessuno dei pazienti ha evidenziato valori di ACTH > 100 pmol/L, che è indicativo di insufficienza surrenalica primaria. La curva ROC ha evidenziato che un cortisolo basale < 254 nmol/L è in grado di discriminare i pazienti con risposta surrenalica ritardata al LST (AUC 0.78; $p < 0.001$) con buona accuratezza diagnostica (sensibilità 67%, specificità 81%).

Dosaggio del cortisolo libero: il cortisolo libero è stato dosato in 12 pazienti: 7 hanno evidenziato una risposta anormale al LDSST (cortisolo libero < 33 nmol/L); questi ultimi hanno evidenziato anche una ridotta risposta al LST dopo 24 ore (1326 vs 1750 nmol/L, $p < 0.05$). Inoltre il cortisolo libero dopo stimolo è risultato direttamente correlato alla risposta surrenalica dopo 24 ore dal LST ($r = 0.70$; $p < 0.01$):

Conclusioni

Una percentuale rilevante (55%) dei pazienti studiati ha evidenziato una risposta surrenalica ritardata dopo LST, escludendo una insufficienza primaria. Inoltre una insufficienza

primaria è caratterizzata da elevati valori di ACTH basali (ACTH > 100 pg/ml). Questi dati suggeriscono che nei pazienti cirrotici ci potrebbe essere anche una alterazione dell'asse ipofisi-ipotalamo-surrene come causa di insufficienza surrenalica in questi pazienti. Ulteriori studi sono necessari per approfondire la eziopatogenesi della sindrome epato-surrenalica.

Terapia sostitutiva della sindrome epato-surrenalica (Allegato 4)

Il nostro gruppo di ricerca ha inoltre pubblicato uno studio dove viene descritto un caso clinico di un paziente cirrotico con sindrome epato-surrenalica trattato con terapia corticosteroidea. Si tratta di un paziente di 60 anni ricoverato per un episodio di sanguinamento gastrointestinale ed edemi declivi. Il paziente riferiva una storia di intensa astenia da circa due mesi, dolori muscolari da alcuni mesi. I dati di laboratorio e l'esame obiettivo deponevano per la diagnosi di cirrosi epatica, che venne confermata dagli esami strumentali. La persistenza di valori pressori molto bassi ci ha indotto a valutare la presenza di sindrome epato-surrenalica. E' stato utilizzato il test di stimolo con 1 µg di ACTH che ha confermato la diagnosi di insufficienza surrenalica. E' stata intrapresa terapia corticosteroidea prima con idrocortisone ev (50 mg/6 ore) per 4 giorni, poi si è intrapresa la terapia orale con cortone acetato (25 mg/die). Le condizioni cliniche del paziente sono progressivamente migliorate, con riduzione della stanchezza e della debolezza agli arti con ripresa della deambulazione, i valori della pressione arteriosa si sono normalizzati.

Pertanto riteniamo che in accordo con il nostro caso clinico descritto, è importante identificare sintomi suggestivi di insufficienza surrenalica nel corso della malattia cirrotica, e avviare i pazienti ad ulteriori approfondimenti ed eventuale trattamento sostitutivo. La rilevanza clinica della sindrome epatosurrenalica rimane comunque ancora da chiarire completamente, i clinici dovrebbero però avere ben presente che il paziente cirrotico può presentare questa complicanza e quindi sospettarla e ricercarla con gli appositi tests di stimolo.

Cortisolo totale, cortisolo free e i suoi markers surrogati nella sindrome epato-surrenalica (Allegato 5)

Nel corso degli ultimi anni l'insufficienza surrenalica è stata descritta in corso di malattie epatiche con prevalenza differente: in pazienti con malattie acute (33%-92%), nella cirrosi stabile (31%-60%) o complicata da ascite (26%-64%) o da sanguinamento da varici esofagee (30%-48%). Un problema rilevante nello studio della funzione surrenalica nei pazienti cirrotici è il rapporto fra cortisolo totale e cortisolo libero. Infatti, il 70% del cortisolo circolante è normalmente legato alla cortisol binding globulin (CBG), il 20% è legato all'albumina, mentre il restante 10% è in forma libera. Solo il cortisolo libero è la parte biologicamente attiva responsabile di tutti gli effetti cellulari. Nei pazienti cirrotici, che notoriamente sono affetti da ipoproteinemia, è stato evidenziato che il dosaggio del cortisolo totale sovrastima la prevalenza di insufficienza surrenalica rispetto al dosaggio del cortisolo libero e del cortisolosalivare che è un marker surrogato del cortisolo libero. Questo ha portato alcuni autori a mettere in dubbio la rilevanza clinica dell'insufficienza surrenalica nei pazienti con cirrosi epatica. Questo importante problema diagnostico è stato l'oggetto di un

nostro studio recentemente pubblicato, che è stato condotto in collaborazione con il professore Andrew Burroughs presso il Royal Free Sheila Sherlock Liver Centre di Londra. L'obiettivo dello studio è stato quello di valutare la funzione surrenalica nella cirrosi epatica utilizzando il dosaggio del cortisolo totale e del cortisolo libero dopo test di stimolo a basse dose di ACTH (LDSST). L'obiettivo secondario era quello di valutare l'utilità clinica dei surrogati del cortisolo libero, cioè il cortisolo libero calcolato e il free cortisol index (FCI) (cioè il rapporto fra il cortisolo totale e la concentrazione di CBG).

Pazienti e metodi

Lo studio ha coinvolto 79 pazienti con cirrosi epatica. I criteri di esclusione dello studio erano: sepsi o instabilità emodinamica (pressione arteriosa media < 60 mmHg o necessità di vasopressori), precedente storia di malattia dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, recente (entro i 3 mesi precedenti) di terapia con corticosteroidi o altri farmaci che interferiscono con l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, età minore di 18 anni, gravidanza. La funzione surrenalica è stata studiata con il test di stimolo a basse dosi (1 µg) di ACTH (LDSST). L'insufficienza surrenalica è stata definita da un cortisolo totale dopo stimolo di

< 494 nmol/L a 20 o 30 minuti dopo l'infusione endovenosa di ACTH. Inoltre una sottoanalisi è stata condotta utilizzando altri due criteri di insufficienza surrenalica: cortisolo basale < 138 nmol/l e un delta cortisolo < 250 nmol/L. L'inadeguata risposta del cortisololibero al LDSST è stata definita da un cortisolo libero dopo stimolo < 33 nmol/L. Inoltre una sottoanalisi è stata condotta utilizzando il cut-off di 25 nmol/L per il cortisololibero dopo stimolo. I markers surrogati di cortisololibero che abbiamo utilizzato sono stati il FCI (cut-off di 12) e il cortisolo libero calcolato con la formula di Coolens.

Risultati

La prevalenza di insufficienza surrenalica è stata del 34% utilizzando il cortisolo totale, e del 29% utilizzando il cortisolo libero. C'è stata concordanza tra i due metodi diagnostici nel 22% dei pazienti, nel 13% la disfunzione surrenalica è stata diagnosticata solo sulla base del cortisolo totale, e nel 6% solo sulla base del cortisolo libero (k-coefficiente 0.56; $p < 0.01$). Basse concentrazioni di CBG (21 vs 54 ug/ml; $p < 0.01$) hanno portato ad una sovrastima della disfunzione surrenalica basata sulla misurazione del cortisolo totale. Il cortisolo libero calcolato con la formula di Coolens ha sovrastimato il cortisolo

libero misurato, con variazioni fino all'87%. L'insufficienza surrenalica, definita dal FCI <12. È stata rilevato nel 30% dei pazienti, tra i quali il 23% aveva anche bassi livelli di cortisolo libero (k-coefficient, 0.70; $p < 0.001$). Non è stata trovata alcuna associazione statisticamente significativa tra funzionalità surrenalica e la prognosi valutata come outcome composito (mortalità o trapianto di fegato).

Conclusioni

Questo studio ha confermato l'alta prevalenza dell'insufficienza surrenalica nella cirrosi epatica, anche prendendo in considerazione il dosaggio del cortisolo libero, rimarcando ancora una volta la rilevanza clinica di questa condizione patologica. I nostri risultati hanno confermato una discordanza tra il cortisolo totale e il cortisolo libero nei pazienti cirrotici, e hanno evidenziato che gran parte di questa discordanza è spiegata da basse concentrazioni di CBG, mentre altri fattori come i valori di albumina e gli indici di funzionalità epatica (Child-Pugh score) sembrano essere meno rilevanti. Un altro importante risultato del nostro studio riguarda il FCI, il quale si è dimostrato un valido surrogato del cortisolo libero nella diagnosi di insufficienza surrenalica, aprendo la strada ad

interessanti applicazioni cliniche qualora questi risultati venissero confermati da altri studi. Invece il cortisolo libero calcolato con la formula di Coolens si è dimostrato un marker inaffidabile, in quanto sovrastima eccessivamente il cortisolo libero misurato, confermando precedenti dati di letteratura.

Nel nostro studio non abbiamo dimostrato un'associazione tra funzionalità surrenalica e prognosi. Tuttavia questo studio non era stato disegnato come studio prognostico, e questi risultati devono esser interpretati con cautela. Sono necessari ulteriori studi per valutare l'associazione tra la funzione surrenalica e la prognosi nei pazienti con cirrosi. Questi studi, con un lungo follow-up, devono valutare l'incidenza di disfunzione surrenalica nella cirrosi e la sua correlazione non solo con la sopravvivenza, ma anche con altre complicanze, come insorgenza di ascite, encefalopatia, emorragie, infezioni, sepsi e shock. Infatti, nella cirrosi stabile l'insufficienza surrenalica potrebbe essere una condizione subclinica, che in presenza di eventi scatenanti quali infezioni o altre malattie acute, può portare ad una prognosi peggiore.

Insufficienza surrenalica nella cirrosi epatica: Revisione della letteratura (Allegato 6)

Nel corso dei nostri studi sulla funzione surrenalica nella cirrosi epatica abbiamo pubblicato una review sistematica sulla disfunzione surrenalica nei pazienti con malattie epatiche. La ricerca bibliografica, effettuata utilizzando MEDLINE, Cochrane Controlled trial Register (Central), EMBASE and Science Citation Index, ha incluso tutti gli studi pubblicati fino ad Aprile 2011. Su un totale di 12.696 studi inizialmente individuati, ne sono stati selezionati 23 (16 full text, 5 abstracts, 2 case reports). Quattro studi con in totale 511 pazienti, pubblicati dal 2002 al 2006, sono stati condotti su pazienti con insufficienza epatica acuta o epatopatie croniche in corso di eventi acuti (sepsi e shock). La prevalenza di insufficienza surrenalica in questi studi era del 33%-92%. Tale variabilità è dovuta a differenti criteri nella definizione di insufficienza surrenalica, evidenziando una carenza di standardizzazione in questo campo. In undici studi pubblicati, con un totale di 1013 pazienti, la funzione surrenalica è stata studiata in pazienti con cirrosi stabile o decompensata (ascite o sanguinamento da varici) con una prevalenza di insufficienza surrenalica del 9%-64%. Anche

in questo caso la variabilità nella prevalenza di insufficienza surrenalica rimarca la differenza nei criteri usati per la sua definizione diagnostica e le diverse metodiche diagnostiche utilizzate. Quattro studi con 216 pazienti in totale, riportano dati sul trattamento con corticosteroidi nei pazienti epatopatici. I primi tre studi mostrano dati incoraggianti, evidenziando benefici in termini di stabilità emodinamica e sopravvivenza associati all'uso di corticosteroidi. Tuttavia l'unico studio randomizzato controllato, condotto da Arabi et al., non ha confermato i benefici sulla prognosi della corticosterodea, anzi questa è stata associata ad una maggiore incidenza di sanguinamenti gastrici e recidiva di shock dopo la sospensione del trattamento. I dati pubblicati in letteratura sono contrastanti e suggeriscono la necessità di ulteriori studi randomizzati per approfondire il problema della rilevanza clinica della insufficienza surrenalica nei pazienti con malattia epatica e l'eventuale beneficio della terapia corticosteroidica.

Bibliografia

- [1] Fede G, Spadaro L, Tomaselli T, Privitera G, Germani G, Tsochatzis E, Thomas M, Bouloux PM, Burroughs AK, Purrello F. Adrenocortical dysfunction in liver disease: a systematic review. *Hepatology* 2012 Jan 11;doi:10.1002/hep.25573.
- [2] Harry R, Auzinger G, Wendon J. The clinical importance of adrenal insufficiency in acute hepatic dysfunction. *Hepatology* 2002;36:395–402
- [3] Marik PE, Gayowski T, Starzl TE. Hepatic Cortisol Research and Adrenal Pathophysiology Study Group. The hepatoadrenal syndrome: a common yet unrecognized clinical condition. *Crit Care Med* 2005;33:1254-1259.
- [4] Marik PE, Gayowski T, Starzl TE. The hepatoadrenal syndrome: a common yet unrecognized clinical condition. *Crit Care Med* 2005;33:1254–1259
- [5] Fernandez J, Escorsell A, Zabalza M, Felipe V, Navasa M, Mas A, et al. Adrenal insufficiency in patients with cirrhosis and septic shock: Effect of treatment with hydrocortisone on survival. *Hepatology* 2006;44:1288–1295
- [6] McDonald J.A. et al. Hypothalamic-pituitary adrenal function in end-stage non-alcoholic liver disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 1993;8:247-253
- [7] Yaguchi H, Tsutsumi K, Shimono K, Omura M, Sasano H, Nishikawa T. Involvement of high density lipoprotein as substrate cholesterol for steroidogenesis by bovine adrenal fasciculo-reticularis cells. *Life Sci* 1998;62(16):1387-1395.
- [8] Gwynne JT, Strauss III JF. 1982. The role of lipoproteins in steroidogenesis and cholesterol metabolism in steroidogenic glands. *Endocr. Rev.* 3, 299–329.

- [9] Van der Voort PHJ, Gerritsen RT, Bakker AJ, Boerma EC, Kuiper MA, de Heide L. HDL-cholesterol level and cortisol response to synacthen in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2003; 29: 2199–203.
- [10] Cai L, Ji A, de Beer FC, Tannock LR, van der Westhuyzen DR. SR-BI protects against endotoxemia in mice through its roles in glucocorticoid production and hepatic clearance. *J Clin Invest* 2008; 118: 364–75.
- [11] Chapman MJ, Goldstein S, Lagrange D, and Laplaud PM (1981) A density gradient ultracentrifugal procedure for the isolation of the major lipoprotein classes from human serum. *J Lipid Res* 22:339–358.
- [12] Von Eckardstein A, Huang Y, Assmann G. Physiological role and clinical relevance of high-density lipoprotein subclasses. *Curr Opin Lipidol.* 1994 Dec;5(6):404-16.
- [13] Tian L, Fu M. The relationship between high density lipoprotein subclass profile and plasma lipids concentrations *Lipids Health Dis.* 2010 Oct 17;9:118. doi: 10.1186/1476-511X-9-118.