

## CORSO OPZIONALE ITTERI

09.05.2008

Prof Okolicsanyi

### **COLESTASI**

La **colestasi** è un termine che indica una condizione di stasi della bile cioè un rallentamento o blocco della secrezione biliare accompagnata da alterazione della composizione della bile (80-90% di H<sub>2</sub>O, componenti lipidici cioè fosfolipidi, lecitina, sali biliari e colesterolo, ma anche sali come Na, K, Cl e bilirubina che dà colore alla bile). Quando c'è alterata composizione della bile dovuta a svariati eventi troveremo che nel sangue i componenti biliari si riversano non potendo essere liberati. È un concetto importante: siamo in grado di differenziare le varie fasi della colestasi, dall'evento colestetizzante che agisce all'interno ed eventi extraepatici, esercitando pressione esterna sul coledoco. La nostra attenzione clinica si focalizza soprattutto sulle forme intraepatiche che generano la bile nel fegato e da qui in poi fino alla confluenza.

Dott.ssa E. De Martin

Dott. F. Furlanetto

Dott. Max Cadamuro

### **CASO CLINICO**

Il paziente è un maschio giovane che viene ricoverato all'ospedale di Vittorio Veneto per episodio di vomito, insorgenza di ittero, prurito ingravescente.

**Anamnesi fisiologica:** pittore edile, allevatore di cani. Dieta varia, calo ponderale di circa 18 Kg negli ultimi 3 aa per alimentazione sregolata causa lavoro, alvo regolare. Non fumo, assunzione di bevande alcoliche occasionale.

Allergia per ac. Acetilsalicilico, graminacee, acari.

**Anamnesi Familiare:** Padre deceduto per HCC su cirrosi di ndd (eso?)

Madre deceduta per mieloma multiplo

**Anamnesi Remota:** Nel 2002 riscontro di HCV positività. Nel 2004 litotrissia per calcolosi renale.

Da circa 1 anno assunzione di farmaci omeopatici allo scopo di dissolvere le litiasi renale. Sospensione circa 3 mesi prima del ricovero.

**Esame obiettivo:** Peso 63.8 Kg Altezza 1.70 cm, BMI 21.8. Addome trattabile, non dolente alla palpazione. Fegato palpabile a circa 5 cm dall'arcata costale di consistenza soffice.

**Esami ematochimici:**

- GB 4.3 x 10<sup>9</sup>/L, VES 21 mm/h
- INR 1.08
- AST/ALT 153/123 UI/L
- Bilirubina tot/dir 8.57/2.76 mg/d
- ALP/GGT 77/130
- Funzionalità renale nella norma
- αFP 45.9
- HBsAg neg, Ac anti HCV pos

**Ecografia addome**

- **Fegato** ingrandito, regolare per morfologia ed ecostruttura.
- **Colecisti** dismorfica, a pareti fortemente ispessite e disomogenee. Alitiasica. Via biliare principale di circa 5 mm, contenente alcuni echi densi al suo interno.
- **Testa pancreatica** mal indagabile, appare ingrandita, in presenza di qualche piccola areola ipoecogena di non univoca interpretazione (utili RM e ERCP).
- **Non versamento** libero intraddominale. Milza nella norma.
- **Reni** regolari per dimensioni e morfologia, in presenza di alcune formazioni microlitiasiche, bilateralmente, la maggiore delle quali di ca 8 mm, a sinistra.
- **RM addome e colangioRM:** sottile falda liquida periepatica. Fegato di dimensione aumentate, con margine inferiore arrotondato, senza evidenti lesioni focali. Non dilatazione delle vie biliari intra ed extra-epatiche. Colecisti contratta, con pareti diffusamente ispessite. Alterazione di segnale di tipo edematoso degli spazi portali: quadro di colangite VS riacutizzazione di epatite. Non lesioni pancreatiche
- **EGDS:** Gastrite da reflusso biliare antro e Papilla di Vater protrudente

Durante la degenza il paziente ha un picco di bilirubinemia totale di 41,76mg/dL.

Il paziente viene trasferito nel reparto di gastroenterologia di Treviso in seguito ad assunzione di tossici. Viene trasferito a TV con problema di ittero e prurito e danno epatico colestatico acuto. È apiretico senza dolore. La sera prima del ricovero il aveva

fatto baldoria con abuso di alcol e tossici. L'eco conferma epatomegalia, la colecisti con pareti ispessite, linfonodo all'ilo, lieve splenomegalia e livee versamento ascetico (si tratta di trasudato). La bilirubina arriva fino a 59, aumento acidi biliari e INR (allungato, correlato con la funzionalità epatica). Si dosa viremia e si ha carica virale.

A completamento il pz durante ricovero mostra cefalea, non ha flapping, sviluppa febbricola ed episodi di epistassi fino a 10.7 di Hg, Coombs positivo, EGDS mostra esofagite di grado A e duodenite di grado moderato. Il timore era di una prognosi aggravante da un quadro clinico apparentemente normale con miraggio velocissimo. Ci sono pazienti che entrano in piedi con ittero ingravescente e nel giro di due giorni sono in coma che arriva fino all'edema cerebrale.

Come detto il paziente presenta ascite e pertanto viene eseguita una paracentesi esplorativa con la presenza di liquido citrino, leucometria negativa. L'esame chimico fisico indica che si tratta di un trasudato.

Con la gastroscopia si volevano vedere segni di ipertensione portale e anche per escludere lesioni emorragiche, si è trovato invece esofagite da reflusso.

Riassumendo il quadro clinico del paziente:

- Insorgenza di cefalea. Non segni di flapping tremor. **EEG**→ reperti normali.
- Sviluppo di piressia senza brivido. Puntata 38° C **Emocolture**→ neg.
- Persistenza di febbricola serotina→si imposta terapia antibiotico
- Episodi di epistassi. Anemizzazione (Hb 10.7 g/L)
  - a) **Test di Coombs:** pos
  - b) **EGDS:** Esofagite di grado A sec L.A. Incontinenza cardiale, gastropatia diffusa, duodenite moderata

la diagnosi differenziale è da porre nei confronti di:

- **calcolosi delle vie biliari**
- **riacutizzazione virale (HCV)**
- **danno da xenobiotici**
- **epatite AI.**

Possibile diagnosi	pro	contro
Calcolosi vie biliari	Ittero Ipertransaminasemia	Asintomatico, ColangioRM neg
Riacutizzazione HCV	HCV+	

Danno da xenobiotici	Assunzione prolungata	Assenza comprovata tossicità
Epatite autoimmune	Epatite acuta colestatica	NOSA neg, sesso

**DILI**

Il danno da xenobiotici, da sostanze tossiche, agisce attraverso due meccanismi:

- dose dipendente: richiede l'attivazione di un metabolita che agisce a livello subcellulare con breve periodo di latenza con istologia classica con necrosi zonale e statosi microvescicolare
- idiosincrasico: il meccanismo d'azione è di tipo metabolico con suscettibilità di un individuo ad una sostanza sicura. Un altro meccanismo è quello immunoallergenico con risposta mediata dal sistema immune. Vi è un periodo di latenza ed istologia con varietà di reperti. mediata sia dal sistema immune che metabolico con suscettibilità.

Il danno tossico è responsabile del 4% degli itteri di ndd. Non c'è cut off temporale tra assunzione e comparsa dei sintomi, non ci sono cut off stabiliti. Nella maggior parte dei casi sono dovute a paracetamolo (danno epatocitario). Lo 0,7% dei pazienti ha meccanismo di danno idiosincrasico. C'è uno score dal nome di RUCAM/CIOMOS che indica la probabilità di correlazione tra danno epatico e xenobiotici. Della precedente diagnosi epatica resta per esclusione solamente il danno da xenobiotici.

Si sottopone il paziente ad una biopsia epatica. Il prurito è il sintomo caratteristico della colestatica ma non solamente, vedi anche nei cirrotici avanzati (non è chiaro il rapporto tra prurito tra sali biliari e prurito, si parla di alterazione di recettori dei cannabinoidi e la cura del prurito in determinate condizioni è importante e va valorizzato: in alcuni pz il prurito può essere causa di suicidio).

**Biopsie:**

Biopsia 1: è in corso una infiammazione, si vede anche dall'alto. Nel contesto del parenchima i vacuoli sono di statosi, non sono significativi di questi biopsia.

Biopsia 2: c'è fibrosi, l'infiltrato flogistico poco significativo.

Biopsia 3: infiltrato molto significativo. Il dotto biliare è moderatamente sofferente. Non si osservano infiltrazioni nel contesto dei colangiociti. C'è un certo atteggiamento follicolare, atteggiamento frequente nell'epatite C.

Sempre nella biopsia 1 c'è enorme dismetria tra epatociti con citosol molto rigonfio, il parenchima subisce pesanti rimaneggiamenti (rigenerazione).

A maggior ingrandimento non tutte le strutture hanno atteggiamento tubulare o biliare. Non abbiamo espressione di citocheratina 7. Il fegato è interessato quindi da un processo infiammatorio molto importante acuto e cronico con associati fenomeni di molestia. La quantità del fenomeno si nota male in quanto vediamo dei campi selezionati, ma nel contesto della biopsia era il quadro maggiormente rappresentato. Il reticolo intronale alle cellule è sostanzialmente conservato. In questa fase acuta ci interessa che il reticolo sia conservato con rigenerazione di tessuto epatico. In caso di necrosi massiva il reticolo può scomparire e il restituito ad integrum è severo (ci fa ben sperare per una rigenerazione armonica). Abbiamo colorato con il *Sirius Red* per colorare il tessuto fibroso e valutare il grado di fibrosi.

Quindi abbiamo un processo infiammatorio molto importante a significativa impronta colestatica, che ci fa pensare ad una patologia da farmaci, ci sono varie categorie di farmaci, ma mancando in anamnesi l'assunzione di prodotti erboristici risulta suggestiva. Il problema delle sostanze autoprescritte è importante.

Quindi la conclusione, considerando il quadro clinico, gli esami biochimici, la biopsia, è che **diagnosi è stata di colangiopatia da xenobiotici con colestasi acuta.**

### **Colestasi**

Qualunque noxa patogena che causa un danno a questo livello può portare a colestasi cioè alterazione di secrezione o flusso biliare di componenti biliari. Non è sinonimo di ittero. Se il danno avviene a livello epatocitario o a livello dei dotti biliari si parla di colestasi intraepatica, se a livello extraepatico si parla di colestasi extraepatica. Il danno indotto da sostanze tossiche interessa i primi due siti e la colestasi intraepatica è l'esito di un danno a livello epatocitario oppure a livello dei colangiociti e dotti biliari intraepatici (colestasi duttale e colestasi epatocanicolare).

La colestasi indotta da xenobiotici può essere di tipo acuto e cronico se si prolunga nel tempo. Se acuto il danno si localizza a livello canalicolare per esempio. Il nostro paziente aveva assunto prodotti di erboristeria con danno a livello dei colangiociti.

Le colangiopatie si classificano in

**a) Genetiche/Ereditarie**

- Sindrome di Alagille (AGS)
- Fibrosi Cistica (CF)
- Deficit di MDR3
- Malattie Fibropolicistiche epatiche (ADPKD, ARPKD, CHF, malattia di Caroli)
- Assenza congenita della vena porta (CAPV)

**b) Immunomediato**

- Cirrosi biliare primitiva (PBC)
- Colangite sclerosante primitiva (PSC)
- Colangite autoimmune (AIH)
- Rigetto acuto
- Rigetto cronico
- Graft vs. Host disease

**c) Infettive –Batteriche**

- Parassitarie
- Fungine
- Virali

**d) Indotte da farmaci**

- Acido clavulanico
- Anti-infiammatori non steroidei
- Statine

**e) Vascolari/Ischemiche**

- Stenosi dell'arteria post-trapianto
- Infusione di chemioterapici dall'arteria epatica
- Vasculite sistemica

**f) Idiopatiche**

- Atresia Biliare intra- ed extra-epatica
- Sarcoidosia
- Duttopenia idiopatica dell'adulto

**g) Tumoriali**

- Colangiocarcinoma

Le vie biliari nascono e poi ramificano dettagliatamente nel fegato e quindi abbiamo intimo rapporto tra vie biliari, epitelio e fegato stesso però le vie biliari e le loro componenti possono avere una loro autonoma patologia. Dobbiamo focalizzare la nostra attenzione all'autonomia delle vie biliari oltre al fatto di avere un intimo rapporto con il fegato e quindi possiamo avere contemporaneamente una doppia patologia.

Il paziente è stato dimesso e seguito ambulatorialmente con miglioramento del quadro clinico. La bilirubina è scesa. A fronte di un controllo biochimico di questo tipo si è chiesto quale potesse essere l'evoluzione istologica. Al paziente è stato dato l'ac desossicolico che ha migliorato il prurito ma non c'è stata una terapia specifica.

Il paziente in seguito si è sottoposto ad una seconda biopsia nella quale si vede che il parenchima epatico è ben conservato, non è frammentato, non è presente popolazione diversa dagli epatociti. C'è una piccola componente infiammatoria, molto diminuita. Nel lobulo c'è tutta una popolazione aggiunta.

Siamo a circa 2 mesi dall'ultima biopsia. La concentrazione di reticolo non c'era nella biopsia precedente, quindi è aumentata la trama reticolare che può ancora regredire ma non si sa il significato preciso.

Abbiamo quindi visto che nei pazienti vi era una colestasi e l'evoluzione stata verso una fibrosi portale.

Dott. Massimiliano Cadamuro

**RISPOSTA RIPARATIVA AL DANNO EPITELIALE BILIARE - RUOLO PATOGENETICO DELLA COLANGIOPATIA**

**Generalità**

La classificazione delle colangiopatie come visto prima è molto varia. Il fegato reagisce mediante la reazione epiteliale e attraverso tre tipi cellulari diversi:

- Cellule duttali reattive
- cellule progenitrici
- cellule intermedie

Queste reazioni porteranno il fegato sano a sviluppare la cirrosi con manifestazioni di fibrosi e colestasi.

## **Fibrosi**

Abbiamo diverse lesioni:

- fibrosi porto-portali: con unione di diversi spazi portali, lesioni nelle quali oltre alla componente porto portale c'è componente centrale
- fibrosi a ponte
- fibrosi centro-lobular
- fibrosi pericellulari che genera un reticolo che circonda gli epatociti.

Nel setto fibrotico sono presenti strutture biliari.

I tipi cellulari che inducono fibrosi sono diversi: le cellule mesenchimali nel fegato sono le cellule stellate e i fibroblasti. I dotti biliari reagiscono all'insulto e si stimolano le cellule stellate con attivazione dei miofibroblasti che comunicano a sintetizzare collagene, mims (inibitori delle metalloproteasi) e quindi aumento delle fibre collagene e fibrosi.

Le cellule stellate epatiche possono comunicare tra di loro mediante comunicazione paracrina cioè tra tipi cellulari diversi. I dotti biliari reagiscono, con reazione duttale soprattutto nelle ramificazioni terminale dell'albero biliare. I dotti biliari poi si attivano, si de-differenziano e incominciano a secernere una serie di fattori di trascrizione come proteine di adesione citochine, chemochine proinfiammatorie.

Non sono vi è un componente coinvolto., ma ci sono diversi elementi cellulari coinvolti come le reactive ductular, ecc

La deposizione di matrice si vede soprattutto in area portale con cellule ASMA-positive presenti soprattutto in aree portali. In altre biopsie si vedono setti fibrotici con formazione di setti. Un'altra differenza fondamentale è la presenza di cellule intermedie. La correlazione positiva tra i duttuli reattivi è stata dimostrata da diversi studi, dimostrando nella sindrome di Alagille e Atresia delle vie biliari.

La sindrome di Alagille è caratterizzata dalla mancanza quasi completa dei dotti biliari. È una mutazione genetica, patologia molto rara con ereditarietà autosomica dominante. Per alcuni tipi di atresia sono stati individuati dei geni responsabili, ereditarietà è sconosciuta.

La sindrome di Alagille ha tendenza blanda a formare cirrosi mentre la Atresia ha forte tendenza e i bambini sono trapiantati entro due anni.

Valutando lo spessore dei setti si è visto una correlazione tra duttuli reattivi ed espressione dei setti e più il paziente tenderà ad andare in cirrosi. Per quanto riguarda la colestasi è stato dato un risalto a trasportatori canalicolari.

### **Trasportatori:**

- **MRP2**: trasportatore della bilirubina coniugata
- **BSEP**: trasportatore dei sali biliari.

La mancanza di queste due proteine fa sì che vi siano diverse sindromi. Se manca di MRP2 abbiamo la sindrome di Dubin-Johnson sindrome caratterizzato dalla colestasi.

**MRP2**: è una proteina transmembrana che viene espressa selettivamente dai canalicoli. Trasporta bilirubina coniugata. Si trova nella membrana apicale delle cellule del rene e intestino. La maggior espressione è nel fegato.

**BSEP**: proteina transmembrana e anch'essa espressa prevalentemente dal fegato ed è deputata alla secrezione dei sali biliari. È espressa prevalentemente nel fegato dove si localizza nei canalicoli e nelle vescicole subcanalicolari degli epatociti. La sua carenza provoca la **PFIC2** (colestasi intraepatica familiare di tipo 2) e la **BRIC2** (colestasi intraepatica ricorrente tipo 2).

Una cosa fondamentale che queste proteine è che devono anche essere trasportate a canalicolo per funzionare correttamente. In riscontro bioptico infatti si vede dislocazione citoplasmatica di BSEP sia completa che parziale dando conto all'abbassamento con il tempo della bilirubina.

Quindi abbiamo due trasportatori specifici sparati fuori a livello di epatociti.

Nella seconda biopsia c'è calo di sali biliari e verso la normalizzazione per aumento di espressione canalicolare BSEP e MRP2 con ripresa della funzione normale. La spiegazione del perché all'inizio non c'era. Si è andati a vedere l'espressione di HNF-beta cioè di un fattore di trascrizione che selettivamente biliare. Nella seconda biopsia HNF non viene espresso dagli epatociti.

Le cellule transizionali possono diventare sia epatociti che hepatic progenitor cells (facendo fibrosi qui altrimenti no). Quindi **l'evoluzione a fibrosi dipende dal balance tra RDC e IHBC e consensualmente redistribuzione dei miofibroblasti portalì**. Ad un aumento di RDC avremo aumento di miofibroblasti portalì che formeranno collagene, se IHBC avremo fibrosi chicke wire. Il transitorio sviluppo di colestasi è secondario all'abnorme espansione transitoria di IHBC che per il loro commitment biliare non esprimono MRP2 e BSEP.

16.05.2008

Prof. Fabris

## **COLESTASI DA OSTRUZIONE BILIARE CONGENITE**

### **Generalità**

Nella elaborazione della bile entrano in gioco tante componenti: dal canalicolo biliare fino allo sfintere di Oddi sono tutte strutture coinvolte o nella formazione o nella modificazione della Bile. In senso generale qualsiasi alterazione che comprometta una di queste strutture determina colestasi e in particolare le colestasi di cui ci occuperemo sono malattie in cui la cellula colpita è l'epatocita o il colangiocita. Fino a poco tempo fa si riteneva che il colangiocita fosse deputato al passaggio della bile già elaborato ma è una cellula attiva nella elaborazione della bile ed è dotata di trasportatori complessi come l'epatocita (il colangiocita quindi è una cellula attiva). A seconda che sia interessato l'epatocita o il colangiocita abbiamo due forme di colestasi intraepatica: colestasi epatocanicolare quando un processo patologico colpisce l'epatocita e quando colpisce il colangiocita. In che modo rileviamo la presenza della colestasi?

Sappiamo che sono condizioni che spesso sono asintomatiche che quindi spesso non danno sintomi. Il sintomo più comune è il prurito che è un sintomo clinico di colestasi molto specifico (escluse patologie dermatologiche). Poi abbiamo tutta una serie di alterazioni enzimatiche che vanno dall'aumento della fosfatasi alcalina che a differenza della gamma Gt che si è un marker della colestasi, ma non solo. Il vero marker non suscettibile di modulazione da xenobiotici è la fosfatasi alcalina. La bilirubina da un punto di vista clinico non è sempre presente. Le transaminasi possono essere aumentate oppure no, mentre l'altro marker specifico di colestasi sono gli acidi biliari. Nell'altro caso era stato documentato un aumento significativo degli acidi biliari. Questi non entrano nel protocollo di routine di alterazione dei test epatici.

Le **Colestasi intraepatica congenite** sono malattie un po' scorbutiche da studiare in quanto estremamente complesse. Sono malattie singolarmente rare, ma se consideriamo in gruppo sono abbastanza comuni. Altra cosa importante è che sono cronicamente invalidanti progredendo verso il trapianto di fegato. Altro aspetto è che gli avanzamenti in tema di genetica molecolare ottenuti in quest'ambito hanno rivoluzionato non solo la fisiopatologia delle malattie epatiche, ma rappresentano dei modelli di malattia: abbiamo a che fare con precise alterazioni fenotipiche di effetti genetici ben determinate.

### **Colestasi:**

- malattie da disturbo del trasporto. Possono colpire sia il canalicolo che l'epitelio duttale. Sono coinvolte in varie sostanze che vanno a costituire la bile come fosfolipidi, acidi biliari e ioni. Colpiscono selettivamente i trasportatori
- seconda categoria sono i disturbi dell'embriogenesi che sono essenzialmente condizioni date dalla **sindrome di Alagille** e malformazioni della lamina duttale (struttura embrionale da cui origina l'epitelio biliare intraepatico). Altra patologia è l'**Atresia delle vie biliari**.

I meccanismi che regolano la produzione della bile sono diversi. Ci sono diverse sostanze coinvolte nel trasporto della bilirubina coniugata, colesterolo, farmaci proteine, cioè i costituenti della bile che originano dall'epatocita. Questi creano una forza osmotica che richiamano acqua. È la prima fase della produzione della bile in cui i trasportatori hanno ruolo importante. Anche il colangiocita interviene nella modificazione della bile attraverso una serie di processi con funzione di idratare ed alcalinizzare la bile attraverso i due trasportatori del colangiocita. L'MRP2 è il trasportatore canalicolare della bilirubina dopo che questa è stata coniugata con l'acido glucuronico. Del metabolismo della bilirubina parleremo più dettagliatamente. Il difetto genetico della MRP2 è la causa della sindrome di Dubin Johnson cioè una forma di iperbilirubinemia. Altra mutazione importante è quella del **FIC1**, da cui dipende la proteina di trasporto dei fosfolipidi dall'interno all'esterno dell'epatocita. I fosfolipidi nella bile sono importanti in quanto tengono micellati gli acidi biliari. Questo è il difetto di una serie di condizioni come la colestasi intraepatica familiare progressiva e quella ricorrente benigna. Il difetto del trasportatore di elezione dei sali biliari è una condizione grave qual'ora gli acidi biliari siano citotossici. Poi abbiamo MRP2 che è un trasportatore di fosfolipidi che sono diversi dal FIC1 Poi abbiamo il trasportatore del cloro (CFTR) il cui deficit è la causa della fibrosi cistica. Deficit di FIC1 configura in una serie di malattie caratterizzate da ittero e prurito, persistente o episodico con gamma Gt bassa intesa come indicatore del danno del colangiocita (a seconda della sua espressività). A seconda dell'ipomorfismo della proteina mutata abbiamo "rate" diversi di progressione della malattia. Altro segno importante nella forma classica è la diarrea, vedremo perché c'è. Il gene è localizzato sul cromosoma 18 dove rientrano tutte queste proteine nell'ambito dell'ATPasi, cioè dipendono dalla scissione della PP per la loro funzione, ed è coinvolta nella fusione di un aminolipide che non è così rilevante come MDR2. Abbiamo acidi biliari alti nel siero, concentrazione bassa di acidi biliari in questi soggetti e una deplezione di acidi biliari idrofobici. Caratteristica di questa malattia da interessamento del circolo entero epatico, con la FIC1 localizzato non solo nell'epatocita. La FIC 1 infatti non è localizzato solamente sul canalicolo biliare,

ma anche sull'epatocita dove insieme al FXR regola la trascrizione di particolari geni. In questo caso la mancanza di **GIC1** determina soppressione con una non attivazione degli acidi bilari che non vengono assorbiti e determinano perciò diarrea. Quindi per il fatto che il trasportatore è localizzato nell'enterocita entra in gioco la diarrea. Il trasportatore ha espressione pluridistribuita. Il trattamento è la diversione biliare parziale esterna per evitare che gli acidi biliari si accumulino nel sangue. Nelle forme più gravi abbiamo il trapianto di fegato.

### **Colestasi intraepatica progressiva familiare (familial intrahepatic cholestasis, PFIC)**

Esistono attualmente tre tipi di PFIC che inizialmente comprendevano una sola malattia indicata come malattia di Byler (identificata per la prima volta negli Stati Uniti in una comunità religiosa fondata da Jacob e Nancy Byler). Successivamente furono descritte patologie simili a questa, le sindromi di Byler. Come detto attualmente si distinguono tre tipi di PFIC, tutte molto rare.

#### **a) Colestasi intraepatica progressiva familiare tipo 1 (malattia di Byler) o PFIC-1 o Colestasi di Greenland**

In questa forma spesso all'inizio la colestasi si presenta a episodi, ma, a differenza di quanto accade nella BRIC, spesso diviene una colestasi permanente.

È caratterizzato da:

- evoluzione in fibrosi, cirrosi ed insufficienza epatica;
- generalmente coesistono altre patologie (ipoevolutismo, perdita dell'udito, pancreopatie).

Si trasmette con meccanismo autosomico recessivo ed è provocata da mutazioni del gene **FIC1**

Dal punto di vista clinico abbiamo un netto aumento della colelemia e la FA; nella norma, o di poco alterata, la g-GT, (v. BRIC). Anche il colesterolo risulta generalmente normale. Dal punto di vista istologico all'inizio i reperti sono simili a quelli riscontrati nella BRIC; successivamente si instaurano fibrosi e spesso cirrosi.

La prognosi è infausta: si giunge all'insufficienza parenchimale epatica nella prima decade di vita o nell'adolescenza. Attualmente per rallentare il decorso della malattia vengono proposte la terapia con acido ursodesossicolico (UDCA) e/o il drenaggio parziale della bile all'esterno. L'effetto positivo della terapia con l'acido ursodesossicolico, che

viene a costituire la maggior parte del pool dei sali biliari, confermerebbe l'importanza della protezione che i fosfolipidi esercitano sulla membrana cellulare: esso infatti, essendo più idrofilico, non sposta i fosfolipidi dalla membrana.

È quindi la forma più benigna delle tre. Presenta un grading di variabilità clinica che dipende dal difetto genico. Nel giovane adulto in seconda decade abbiamo fenotipo variabile e in questo caso abbiamo episodi di prurito molto ampio e severo, ma molto episodico. La malattia per la sua natura ed espressività clinica mantiene il carattere episodico. È importante nella storia cercare gli eventi trigger cioè eventi che comportano temporanea paralisi della FIC1 con comparsa di ittero. È anche un malattia autolimitante, con progressione rara. Abbiamo lo stesso pattern di aumento degli acidi biliari.

### **b) Colestasi intraepatica progressiva familiare tipo 2 o PFIC-2**

Si manifesta generalmente nel corso delle prime settimane di vita, come una colestasi ingravescente ed è caratterizzato da:

- evoluzione in cirrosi e insufficienza parenchimale epatica
- trasmissione autosomica recessiva.

La malattia è provocata da mutazioni del gene BSEP (localizzato sul cromosoma 2) che codifica la proteina di trasporto della membrana canalicolare da cui dipende l'escrezione di sali biliari. Come nella PFIC1, si hanno alti livelli sierici di colalemia e di FA epatica con normalità o modeste alterazioni della g-GT, aumento acidi biliari con necrosi dell'epatocita.

L'aspetto istologico è simile a quello di un'epatite gigantocellulare, con netta colestasi; si ha una rapida evoluzione in cirrosi, fino all'insufficienza parenchimale epatica. L'evoluzione della PFIC2 non risponde alla terapia con UDCA, che anzi provoca un ulteriore aumento della colalemia, a ulteriore dimostrazione della carenza della proteina BSEP.

Abbiamo quindi un fenotipo che è molto simile alla FIC 1 con ittero e colestasi permanente, g-GT bassa e a differenza della FIC 1 non abbiamo sintomi epatici proprio perché questo trasportatore è localizzato nel canalicolo biliare. È una condizione evolutiva ed è possibile evoluzione verso il colangiocarcinoma. È una epatite gigantocellulare.

### **c) Colestasi intraepatica progressiva familiare tipo 3 o PFIC-3**

Condizione che in questo caso insorge più tardivamente ed è spesso più modesta che nella PFIC1 e nella PFIC2. È una forma caratterizzata da evoluzione in cirrosi, con rischio più alto di ipertensione portale e di sanguinamenti gastrointestinali rispetto alla PFIC1 e alla PFIC2. È una forma di colestasi a trasmissione autosomica recessiva ed è provocata da mutazioni del gene MDR3 (cromosoma 7), con grave carenza o assenza della proteina MDR3, che comporta il mancato trasferimento dei fosfolipidi dalla superficie interna alla superficie esterna della membrana epatocitaria: i sali biliari, non formando micelle con i fosfolipidi hanno effetto tossico sulla membrana canalicolare dell'epatocita e su quella apicale dei colangioli, cui consegue la sofferenza/necrosi delle cellule relative. Qui abbiamo g-GT alta a differenza delle altre due, questo perché gli acidi biliari sono correttamente veicolati e la loro azione tossica la fanno a livello del colangiocita con colestasi intraepatica (colestasi mosse). MDR3 è deputato precisamente al trasporto della fosfatidilcolina, che è il fosfolipide principale per la micellizzazione degli ac. biliari. È una forma di non di colestasi MA di epatopatia con progressione verso una cirrosi biliare. Il danno principalmente è colangiopatico con ipertensione severa.

Sono tutte caratterizzate da prurito tranne... La gamma GT è elevata nella forma di colangiopatia (MDR3 deficiency). Da un punto di vista istologico abbiamo quadro di colestasi canalicolare.

### **COLESTASI INTRAEPATICHE DA OSTRUZIONE BILIARE CONGENITA**

Sono un gruppo di patologie che comprendono:

- Colestasi in corso di fibrosi cistica
- Sindrome di Alagille

### **Colestasi in corso di fibrosi cistica**

Delle forme di colestasi è la più nota ed è una delle patologie epatiche che insorgono in corso di fibrosi cistica. È dovuta alla difficoltà di flusso della bile che consegue alla particolare densità della bile stessa. La fibrosi cistica si trasmette in modo autosomico recessivo ed è dovuta ad una mutazione del gene da cui dipende la sintesi della proteina **CFTR** (cystic fibrosis transmembrane regulator), canale dello ione cloro. Nelle vie biliari la mancanza di questo canale impedisce che, nella membrana apicale delle cellule delle vie biliari, vi sia lo scambio  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ : ne consegue l'escrezione di una bile densa, che provoca la stasi di materiale amorfo nei dotti biliari, e successivamente una cirrosi biliare secondaria, talora zonale.

Il gene per la codifica della proteina CFTR è localizzato sul cromosoma 7 ed essendo la patologia autosomica recessiva salta una generazione. Come detto la proteina CFTR è localizzata sul colangiocita ed è una proteina molto complessa, che rientra nella superfamiglia della ATPasi. La sua funzione è quella di regolare il trasporto attivo dello ione Cl. Può essere localizzato anche in altri distretti, come cellule degli alveoli bronchiali: sono tutte cellule dotate di questo trasportatore. La mutazione più frequente, cioè per screening genetico è la delta F508 che compare nell'80%. Nelle malattie genetiche con tante mutazioni non è percorribile.

La proteina ha due posizioni, una idrofobica transmembrana che è una ATP-asi per favorire il trasporto del Cloro. Secondariamente una volta che il cloro viene estruso questo richiama Na e secondariamente H<sub>2</sub>O determinando la fuoriuscita di un secreto alcalino. In condizioni di mutazione il Cl non viene più estruso e come tale anche il Na e H<sub>2</sub>O non fuoriescono più e conseguentemente si ha la formazione di un secreto molto denso e acido. Il trasportatore si localizza anche nel pancreas e nell'albero respiratorio con manifestazioni frequenti e infezioni del tratto respiratorio per il fatto che c'è pabulum della crescita batterica per le bronchiti ricorrenti. Altro importante manifestazione clinica è l'insufficienza del pancreas esocrino. Sono interessate pertanto tutte le sedi dove il trasportatore è in grado di alcalinizzare il trasporto con manifestazioni che vanno dalla stipsi alla infertilità. Di tutte le manifestazioni le più frequenti sono quelle a carico respiratorio e pancreatiche, ma quelle più gravi sono soprattutto di pertinenza epatica come la cirrosi biliare che se presente condiziona pesantemente la prognosi del bambino. Se il bambino richiede trapianto lo richiede per la malattia epatica.

Altra proteina importante è la **Anion exchange protein 2 (AE2)** che è una proteina di scambio di anioni di membrana e ha la funzione di mediare lo scambio di Cl e HCO<sub>3</sub>. Le due proteine quindi agiscono accoppiati uno per buttare fuori HCO<sub>3</sub> e l'altro Cl. L'AE2 ha la funzione di buttare fuori HCO<sub>3</sub> per tenere alcalina la bile. Il colangiocita può espletare tale funzione solamente grazie alla presenza del trasportatore trasportatore AE2 che riprendo dentro il Cl e butta fuori HCO<sub>3</sub>; quindi se non butta fuori Cl allora non si butta fuori neanche HCO<sub>3</sub> e abbiamo la formazione di secreto biliare alcalino e tutti quei componenti nella bile formano un plug. In questo soggetti il trattamento con UDCA si è dimostrato molto efficace.

Dal punto di vista patologico abbiamo un concentrato proteico con reazione infiammatoria la cui cascata è data da liberazione di citochine e chemochine. È presente importante ipertensione portale. Il dotto biliare viene rimpiazzato da tessuto fibroso. È importante il test del sudore, la concentrazione di Cl è molto elevata e anche tripsinogeno elevato.

### **Sindrome di Alagille (displasia arterioepatica),**

E' una rara malattia caratterizzata da:

- carenza congenita di duttuli biliari interlobulari; le vie biliari extraepatiche sono spesso ipoplasiche;
- coesistono generalmente malformazioni di altri organi e apparati
- spesso si presenta sporadicamente, ma in alcuni casi è stata descritta una familiarità. Attualmente si ritiene che si trasmetta con meccanismo autosomico dominante, con scarsa penetranza ed espressività variabile.

La patologia evolve in cirrosi in circa il 10 % dei pazienti ed è una malattia multisistemica in cui geneticamente è un sistema di signalling che non regola solamente il cammino differenziativo ma anche di altri tipi cellulari e si manifesta quindi come una malattia multisistemica, non solo di interesse del fegato. È di tipo autosomico recessivo.

Le caratteristiche cliniche sono comprendono la colestasi cronica, dovuta a marcata delezione dotti biliari intralobulari. Sono malattie in cui la vanificazione dell'epitelio duttale avviene senza evidente fibrosi. Oltre alla colestasi cronica abbiamo malformazioni cardiovascolari, e una morfologia facciale del tutto caratteristica: abbiamo morfologia trinagolare della faccia, fronte spaziosa, attaccatura dei capelli distante e distanza tra occhi marcata. L'eziologia è data dalle mutazioni del sistema jagged1 per segnali precisi alla trasformazione delle cellule. Da un punto di vista patogenetico sia ha una delezione dei dotti intralobulari senza flogosi e senza alterazione della lamina duttale. Abbiamo manifestazioni colestatiche classiche come il prurito e l'ittero. Non abbiamo complicanze come ipertensione portale. Sono condizioni senza fibrosi settale importante.

Malformazioni:

- epatiche (spazio portale depleto di strutture biliari)
- modesta fibrosi portale
- alterazioni del sistema vascolare: aneurisma vari, stenosi arteria renale, coartazione aortica, aneurisma cerebrali.

Oltre alla terapia somministrata per evitare situazioni carenziali, l'UDCA permette una riduzione della sintomatologia: è così possibile di rimandare il trapianto a un'età in cui l' eseguirlo presenti minori difficoltà in cui la terapia successiva al trapianto comporti un numero minore di effetti collaterali negativi.

## **PATOLOGIE FIBROPOLICISTICHE DEL FEGATO (ADPKD E ARPDK)**

### **Concetti di embriogenesi**

I concetti sono semplici: la lamina duttale è una struttura originaria a singola filiera inizia quando l'epatoblasta immaturo a ridosso dello spazio epatobiliare ha switch da epatocita a colangiocita. Inizialmente verso la XII settimana su alcuni segmenti del suo perimetro inizia anche a duplicarsi e in questa fase si chiama lamina duttale bistratificata e questa una volta duplicata inizia la migrazione del dotto nello spazio biliare portante. Attorno alla 30 esima settimana di gestazione il dotto viene internalizzato nello spazio portale, il segmento di congiunzione obliterato.

In queste patologie quello che è il rimodellamento della lamina duttale da lamia monostrato a dotto incorporato non si forma il network di diramazione della vena porta, ma per problemi di deficit di cancellazione rimangono tratti di dotto biliare non rimodellato che vanno progressivamente incontro a meccanismi di dilatazione, cioè abbiamo un rimodellamento incompleto.

I meccanismi molecolari che regolano l'embriogenesi sono principalmente due:

- **sistema di jagged1/ Notch2**: sistema che richiede interazione diretta delle cellule;
- **HNF5, HNF-1beta e HES-2** che sono fattori di trascrizione che regolano geni cruciali nello switch da fenotipo e sono regolati da un sistema di signaling che richiedono stretta adesione cellula-cellula.

Altra grossa struttura che determina il cammino differenziativo è data dalle proteine ciliari (sono due, vedi quali). Il colangiocita alla pari delle cellule del tubulo renale è alla pari del tubulo ciliare dotata di apparato microtubulare che va a regolare la attività della cellula. Praticamente la cellula sulla base di quello che fa il ciglio capisce cosa fare, funge da meccanosensore, soprattutto nelle cellule ad importante attività secretivi.

Il movimento della ciglia dice alla cellula cosa fare. Esistono tutta una serie di patologie, in cui il difetto genetico colpisce le proteine delle ciglia (fibrocistine policistine). Si configurano come malattie policistiche che interessano prima come malattia policistica renale conosciuta così tempo fa, ma poi riclassificate nell'ambito di patologie epatiche. Il gene mantiene la nomenclatura di gene renale ma acquisizione attuale è che queste protiene sono espresse dai colangiociti. Se il gene interessato è PG1 avremo la forma recessiva.

### **Generalità e patogenesi**

Le malattie policistiche del fegato sono un gruppo di patologie ereditarie caratterizzate da un'aberrante sviluppo dell'epitelio tubulare renale e dell'epitelio biliare, che porta a severe complicanze epatiche. Queste malattie sono caratterizzate da un difetto di proteine localizzate su ciglia primarie sono acuninate dal fatto che i dotti biliari crescono in maniera esuberante fino a formare formazioni cistiche (poi abbiamo la sindrome di Allagile dove i dotti biliari sono completamente depleti dove il deficit è dovuto al Niguao C2).

Non è disponibile alcun tipo di trattamento per prevenire l'ingrandimento delle cisti epatiche e spesso è richiesto il trapianto di fegato o quello combinato fegato-rene. Tra le differenti patologie ne distinguiamo due:

- malattia del rene policistico autosomico dominante (ADPKD)
- malattia del rene poolicistico autosomico recessivo (ARPKD) associato con la malattia di Caroli e della fibrosi epatica congenita.

**L'ADPKD** è causata da mutazioni dei geni PKD1 e PKD2, le cui proteine, policistina-1 (PC1) e policistina-2 (PC2), sono proteine di membrana locate nel cilio presente sul tubulare renale e sull'epitelio biliare che regolano fattori di trascrizione nucleari coinvolti nella morfogenesi e nella differenziazione delle cellule epiteliali, agendo da meccano-recettori. La forma dominante è una malattia congenita con crescita dell'epitelio duttae. Ha prevalenza su 1.400-1:1000, quindi è una delle cause di insufficienza renali nell'età giovane.

**L'ARPKD** è invece associata a mutazioni del gene PKHD1, che codifica per una proteina simil-recettoriale localizzata nel cilio primario delle cellule epiteliali. Recentemente è stato dimostrato che nelle cisti epatiche e renali di animali transgenici che sviluppano malattia policistica, le cilia sono malstrutturate

Ruolo importante è dato dall'aberrante espressione dei fattori angiogenici VEGF ed Ang-1 assieme a quella dei loro recettori da parte dell'epitelio cistico, che sono fattori coinvolti nell'ingrandimento delle cisti agendo come stimolo proliferativo autocrino. Inoltre gli estrogeni, noti per interagire con i fattori di crescita pro-angiogenetici e per stimolare la proliferazione colangiocitaria, potrebbero indurre le crescita di cisti epatiche. Le cisti quindi si formano da una dilatazione, da un difetto malformativo della lamina duttale. Ad un certo punto la cellula della lamina duttale non completa il suo processo di rimodellamento con dilatazione e strutture microamartomatose.

## Quadro clinico

Pur essendo asintomatiche possono sviluppare complicanze acute anche severe e sono causa di trapianto anche severo o perché la cisti si infetta, sanguina ecc. Altra indicazione non acuta che è frequente è che quando il fegato è talmente megalico perché occupato da cisti che da sintomatologia da ingombro. Si vede anche rispettivamente la deformazione. Ci sono le cisti molto dilatate e i microemartomi sono accompagnati da ipervascolarizzazione pericistica. Queste cisti nella forma dominante hanno elemento cruciale che le distingue da quella recessiva, questo è importante nella diagnosi. È importante sapere se è una forma dominante oppure recessiva. La cisti per definizione è che dotta di parete propria. Quando andremo a fare richiesta di imaging mediante colangiogrammi dobbiamo tenere presente se si tratta di una forma dominante o recessiva.

Aspetti da ricordare:

- nel colangiogramma del ADPKD abbiamo assenza di ciglia (è spennacchiato)
- fegato completamente sostituito da formazioni cistiche, cioè parenchima sostituito. Questo fegato mantiene però la sua funzione epatocellulare. È perfettamente conservata la sua funzione.

Nella forma recessiva la descrizione è più o meno la stessa, sono forme che si accompagnano a fibrosi peribiliare! Non si sa ancora come mai. Mutazione è sempre PKHD1. È una condizione che origina dalle malformazioni della lamina duttale. Le complicanze non sono dettate dalle complicanze della cisti ma da ipertensione portale severa e sviluppo di colangioceli. Da un punto di vista morfologico sono cisti più piccole ma in comunicazione con l'albero biliare, incarcerate in un tessuto fibroso molto incarcerato. Non è un fegato cirrotico ma da ipertensione portale. Fanno varici, splenomegalia senza cirrosi.

Quando le dilatazioni a livello epatico diventano importanti allora parliamo di **malattia o sindrome di Caroli**<sup>1</sup>. La distinzione è se c'è o meno ipertensione o meno. La sindrome di

---

<sup>1</sup> Della **malattia di Caroli** in sono stati descritti in letteratura circa 200 casi di malattia di Caroli. Interessa prevalentemente il sesso femminile ed è un raro disordine congenito caratterizzato dalla dilatazione intraepatica sacculare e segmentale dei dotti biliari. Il ristagno della bile interno delle cisti che ne consegue, favorisce l'infezione e lo sviluppo di colangiti.

I sintomi compaiono solitamente nell'infanzia, più raramente la diagnosi viene posta tardivamente. Le classificazioni attuali distinguono una variante più rara nella quale sono presenti solo le semplici dilatazioni dei dotti biliari; nel 60-80% dei casi si osserva il rene a spugna midollare, e la variante con fibrosi periportale (nella quale oltre alle dilatazioni dei dotti biliari possono essere presenti fibrosi epatica congenita, cirrosi e come conseguenza ipertensione portale e varici esofagee, lesioni cistiche renali).

Il quadro clinico è caratterizzato da episodi di colangiti con comparsa di febbre con brividi, nausea e dolore nell'ipocondrio destro.

La presenza di calcoli biliari può aumentare la frequenza di colangiti.

Caroli si presenta quando le dilatazioni si accompagnano ad ipertensione portale. Anche in questo caso una cosa importante è che in queste malattie in cui è prevalente la distensione dell'albero biliare sono condizioni che portano frequentemente a colangiti. Possono dar luogo a litiasi intraepatica (quando troviamo caso di calcolosi intraepatica la prima cosa da pensare è che sia spia sindrome di Caroli non diagnosticata). Il rischio di colangio è molto tangibile (7%). Le dilatazioni che possono essere cospicue e cominciano con l'albero biliare.

### **ATRESIA DELLE VIE BILIARI**

È un processo distruttivo con ostacolo più o meno completo alla circolazione della bile nel fegato. Si tratta quindi di una forma ostruttiva delle vie biliari sia intra che extraepatiche. Le vie biliari appaiono obliterate da tessuto infiammatorio importante. È l'unico modello di patologia umana legata ad ostruzione cronica delle vie biliari determinando una cirrosi biliare secondaria. Sono tipicamente bambini che presentano ittero e prurito sin dalla nascita. Non sono suscettibili alla terapia medica, ma alla epaortostomia (ricostruzione pervietà albero biliare dall'ilo all'intestino); si tratta di un intervento che rallenta la progressione verso la cirrosi oppure il trapianto se interessamento maggiore. Anche le infezioni virali sono causa e non sono malformazioni.

27.05.2008

Prof. Fabris

### **MECCANISMI MOLECOLARI DELLA COLESTASI**

Si tratteranno le condizioni in gravidanza, colestasi e DILI e colestasi&sepsi.

### **COLESTASI INTRAEPATICA DELLA GRAVIDANZA**

#### **Generalità ed emidemiologia**

È una malattia colestatica di eziologia sconosciuta che è caratterizzata clinicamente dal sintomo principale della colestasi cioè il prurito (è anitterica).

Si tratta di complicanza gravidica assai frequente: incidenza, nelle diverse casistiche, tra 1 e 10:10.000. Questa differenza può essere almeno in parte dovuta alla diversità dei criteri diagnostici: se cioè questa diagnosi viene posta anche in donne che presentano solo prurito, o solo in quelle che manifestano una situazione clinica di colestasi più

---

Raramente si possono riscontrare epatomegalia o ittero. Spesso è diagnosticata in associazione a patologie congenite renali come il rene policistico a trasmissione autosomica recessiva. Le cause della malattia rimangono per ora sconosciute e si pensa che questa rara malattia sia il risultato di un alterato sviluppo prenatale dei dotti biliari intraepatici. Sono stati descritti sia casi familiari, con una modalità di trasmissione ereditaria probabilmente autosomica dominante sia casi sporadici.

conclamata. Frequentemente si ripresenta in gravidanze successive o se la donna assume contraccettivi e si manifesta frequentemente in più donne consanguinee: questo rilievo, e il fatto che la colestasi gravidica è più frequente nelle popolazioni scandinava, boliviana e cilena hanno fatto supporre, già da molto tempo un' eziologia congenita. Recentemente alcune osservazioni hanno indicato come causa una modificazione del gene MDR3.

Clinicamente, compare quasi sempre nel terzo trimestre della gravidanza. Il primo sintomo accusato dalla paziente è il prurito, che può rimanere l'unico sintomo. Accanto al prurito abbiamo ipertransaminasemia, anche di 15-20 volte che indica citolisi elevata con espressione colestatica: g-GT (non hanno incremento rilevante) e fosfatasi alcalina non parallela l'incremento delle transaminasi, ma abbiamo incremento degli ac.biliari serici. È paradigmatico senza alcuna difficoltà di costasi. L'insorgenza è nella parte terminale della gravidanza ossia primo-secondo semestre con prurito, alterazioni biochimiche e miglioramento e remissione del prurito entro 2-3 sett dal parto.

La malattia è diventata più riconosciuta dai ginecologi e epatologi. Non c'è differenza per i gruppi etnici, tutti sono interessati ma nell'ambito di questo diffuso interesse ci sono differenze geografiche: è stata descritta per prima negli anni 70 in Cile e Bolivia dove casi di una particolare categoria di Indiani in cui la malattia aveva prevalenza maggiore. Negli ultimi anni c'è una nuova variazione geografica con prevalenza nell'area baltica-scandinava con segnalazioni sopra la media in queste aree dopo il 2000. È più frequente nelle gravidanze gemellari&plurigemellari e chi presenta nella prima gravidanza ha rischio per le altre gravidanze, addirittura del 70%. I fattori genetici sono pesantemente coinvolti in questa malattia. Alla metà degli anni 70 descritto nel 15% dei casi e 20 anni dopo è scesa ma comunque superiore nelle popolazioni Nord Americane. Come prevalenza è sopra le altre stime delle popolazioni occidentali.

### **Aspetti clinici**

Il prurito è uno degli elementi indispensabili per la diagnosi, molto grave e severo anche, rende la gravida molto sofferente ed è spesso notturno. Altro sintomo è l'ittero che è molto modesto, presente in una minoranza di pazienti e ha insorgenza successiva la prurito. Ci sono poi altri due elementi clinici che sono:

- malassorbimento dei grassi, può condizionare anche emorragie post partum gravi;
- espressione .....

Al di là del prurito il rischio per la gravida che ha una remissione, importante è il rischio per il prodotto del concepimento con rischio sia per parto prematuro e tutta una serie di

complicanze anche perdita del feto, bradicardia, di stress respiratorio, complicanze intestinali. Bisogna quindi lavorare in maniera sinergica con ginecologi e ostetrici. Ci sono due elementi che si coreano con outcom fetale: livelli acidi grassi superiori a 40umol/l e severità del prurito.

Dati di laboratorio:

- incremento transaminasi con g-GT aumentato. La FA è inficiata dalla quota placentare ed è di difficile interpretazione.
- Acidi biliari anche 100 volte il valore normale.

Altro aspetto importante è la composizione degli acidi biliari. È importante per la diagnosi differenziale della gravidanza che è la ipercolanemiaca asintomatica della gravidanza in cui si ha aumento di ac. biliari non gravata da prurito. Ci può essere aumento degli ac biliari. La diagnosi differenziale entra quando abbiamo valori elevati degli acidi biliari. Le transaminasi nella ICP sono elevati. La diagnosi quindi tiene conto:

- prurito
- elevato livello di ac. grassi
- spontanea remissione in 2-3 set
- eludere altre cause di prurito.

### **Epatopatie che possono insorgere in corso di gravidanza**

- ipertensione gravidica (1 trimestre)
- acute fatty liver (3 trimestre)
- HELLP sindrome (3 trimestre):
- Pre-eclampsia
- Eclampsia
- Altre eziologie (come la PBC)

Ci sono altre condizioni come la cirrosi biliare primitiva che in particolare entra in diagnosi differenziale con la ECP.

Si tratta di una condizione di colestasi epatcanalicolare cioè il difetto non è nel colangiocita ma del canalicolo. In particolare tra tutti i trasportatori quello più coinvolto è MDR3 con mutazioni eterozigotiche per gene che codifica per questo trasportatore. È deputata al trasporto intracanicolare di fosfatidilcolina. Di tutti i vari fattori funzionali coinvolti nell'uptake basolaterale trasporto canalicolare ecc. E' una condizione, ma di per se non basta. Questi soggetti al di fuori della gravidanza non hanno sintomatologia, il

difetto genetico di per se non basta, quindi fattori ambientali, ma soprattutto ormonali. Abbiamo altri difetti che sono trasportatori con i quali abbiamo confidenza come FIC1 che è un trasportatore di un altro fosfolipide o malattia di S-Welsh e altro trasportatore importante è il BSEP. Ma MDR3 è quello più studiato e si pesa che ci sia un difetto geneticamente determinato di uno di questi trasportatori canalicolari che può condizionare l'epatocita a una ridotta capacità metabolica di tutte le quantità di ormoni sessuali prodotti nella gravidanza.

### **Effetti degli estrogeni sul danno epatico**

La colestasi da etinilestradiolo è la più conosciuta. Questo effetto colestatico manca se la dose di estrogeni è maggiore. La colestasi oggi con la pillola a basso contenuto estrogenico oppure anche in caso di somministrazione di estrogeni nella postmenopausa sono condizioni raramente gravate da una colestasi e i dati sono sicuramente di effetto colestatico. Altro elemento importante è che questa terapia fatta nei cirrotici per ovviare rischio di osteoporosi, la donna sopporta bene. Studiando più di 20mila persone tra chi usa e non uso di contraccettivi non si è trovata differenza statisticamente. In uno studio più recente su 116 biopsie epatiche ottenute da donne che facevano uso della pillola che avevano alterazioni dei test epatici. Gli estrogeni da soli hanno un effetto colestatico ma ha solamente una valenza sperimentale e non clinica. Altre considerazioni da fare soprattutto in particolari contesti è che in gravidanza si manifesta nel 2-3 trimestre quando estrogeni hanno il picco maggiore. Nelle donne con storia personale o familiare l'assunzione della pillola può dare caso simile di colestasi intraepatica.

Ci sono quindi cofattori in causa: carico di ormoni sessuali a partire dal secondo trimestre di gravidanza ed espressione di un recettore. Gli estrogeni hanno due recettori: alfa e beta. Quello più coinvolto nella proliferazione della cellula è il recettore beta.

La colestasi in gravidanza può portare ad epatopatia vera o sviluppo di una litiasi biliare in modo significativo. In gravidanza si manifesta come IC ma in altri fattori può dare luogo a danno epatico. Il trattamento è sempre deursicolico.

In virtù dello studio è che la donna che ha ICP in gravidanza va tenuta in follow up per manifestazioni di vario tipo.

### **Terapia**

La terapia più efficace è quella con UDCA, che non solo riduce la colestasi, ma ha un'azione positiva anche sul feto, in quanto tende a riportare verso la norma il pattern dei sali biliari. Tuttavia, la terapia con UDCA non sempre risulta sufficiente: in questi casi, o quando il prurito sia molto intenso, si associa la colestiramina, resina a scambio

ionico che diminuisce il riassorbimento intestinale dei sali biliari. Va comunque ricordato che questa sostanza riduce anche l'assorbimento di altri farmaci e delle vitamine liposolubili.

## **COLESTASI DA FARMACI**

### **Generalità**

Mentre numerosi farmaci potenzialmente epatotossici possono provocare epatiti con netti caratteri colestatici, una colestasi "pura". La colestasi classica da farmaci è quella da sulfamidici, eziologie idiosincrasia.

Alcuni concetti di danno da farmaci: dobbiamo sempre tenere presente del trattamento farmacologico. Le alterazioni sono molto variabili, da molto sfumate, automlimitate a forme croniche di malattie epatiche, c'è dentro tutto il range. Tutte le forme di epatopatia possono esser riprodotte dal danno da farmaci. Un singolo composto farmacologico può dare anche aspetti eziologici diversi a seconda del paziente. Alcuni come acetaminofene in cui il danno da farmaci è predicabile sulla base della dose. L'evento è più frequente sono le reazioni avverse di dosi non elevatissime di farmaci di normale impiego.

Danno da tossicità diretta (acetaminofene e necrosi) e meccanismi di idiosincrasia in cui la tossicità è dose indipendente, imprevedibile non c'è correlazione temporale. Tante volte una reazione che nasce come tossicità da farmaci sfocia poi in una epatite immunomediata. Solo il 7% delle reazioni avverse sono riportate soprattutto per quanto concerne il fatto che di tutti i ricoveri per ittero il 2,5% riconosceva una causa farmacologia. Da tenere presente che comunque è una condizione poco conosciuta, l'ittero è uno di questi. Il soggetto anziano è quello più suscettibile da danno da farmaci. Ci sono anche le combinazioni in cui più di due farmaci sono stati impegnati. Ben nel 60% dei casi c'è remissione dei danni.

Il danno da farmaci può essere epatitico, epatitico fulminante e colestatico. Circa il 40% dei danni sono con fenomenologia colestatica. La colestasi è sicuramente un evento NON raro.

### **Meccanismo di danno**

Questi farmaci possono interferire con i meccanismi della secrezione biliare. Il farmaco una volta metabolizzato viene trasportato nel citosol, riversato nel canalicolo biliare prende la strada della bile per essere eliminata. Sono stati chiarificati quelli che sono i meccanismi per la colestasi. Ci sono alcuni F molto comuni come la rifampicina che è un

antibiotico impiegato anche in maniera importante, la ciclosporina A, diclofenamide, toclizarone. Sono farmaci che possono inibire l'ATP si deputata al trasporto dei sali biliari. Danno una cis-inibizione

L'effetto è quello della ritenzione di acidi biliare. Etinilestradiolo sfrutta ATP e una volta metabolizzato nella cellula viene riversato nel canalicolo biliare e una volta nel canalicolo biliare, a seconda del polimorfismo può inibire lo stesso trasportatore visto prima con effetto citotossico. È dovuto al polimorfismo genetico dei trasportatori.

Altri esempi di tossicità è dato da interazione tra farmaco come il bosentano usato nell'ipertensione polmonare. Il farmaco da inibizione modesta del trasportatore del BSP ma in concomitanza con altri farmaci l'effetto è marcato.

### **COLESTASI DA SEPSI**

La colestasi in corso di infezioni batteriche è caratterizzata da un forte aumento della bilirubinemia totale, con netta prevalenza della coniugata, e da modesto aumento della fosfatasi alcalina. Insorge più frequentemente in corso di sepsi da Gram-negativi ed è dovuta alla presenza di endotossine, che inibiscono il trasporto dei sali biliari dal sinusoidale all'epatocita e dall'epatocita al canalicolo, attraverso l'azione di citochine come il tumor necrosis factor  $\alpha$  e l'interleuchina 1.

La colestasi da sepsi è un evento clinico frequente nell'ambito della quale ci possiamo aspettare che ci sia una colestasi. Molte sono le infezioni che possono dare colestasi in corso di sepsi, molte delle quali possono dare da G- come detto. Oltre ad avere elevati livelli di FA è il prurito uno degli eventi clinici più frequenti. Il messaggio è che ogniqualvolta che il paziente va in sepsi è da tenere presente la colestasi.

I meccanismi che possono dare colestasi sono diversi, sono legati ad una azione sui trasportatori che sono responsabili dell'uptake basolaterale. Il danno da colestasi è legato ai lipopolisaccaridi delle membrane e sono sostanze estremamente potenti a rilascio di cellule infiammatorie di IL-alfa e TNF-beta mediante cotrasportatore Na dipendente che da ritenzione plasmatica diretta passando direttamente nel plasma producendo livelli di acidi biliari anche importanti. Questo trasportatore è anche responsabile del trasporto della bilirubina e vi è pertanto iperbilirubinemia.

### **CASI CLINICI**

Caso 1:

donna 56 anni per prurito. Esami di lab: fosfatasi alcalina importante e bilirubina aumentata ma non importante. Non ha segni clinici di epatopatia.

Ha sicuramente colestasi visto il prurito.

Cosa potrebbe essere: terapia postmenopausa, chiediamo se altre gravidanze, se ha avuto prurito in corso di gravidanza. Quando fosfatasi alcalina e prurito in questa età potrebbe trattarsi anche di un tumore epatico, ma non è la condizione più frequente.

Vedi colestasi dissociata senza aumento di bilirubina. Chiediamo se prende farmaci. La prima cosa da chiedere è se ha altre patologie autoimmuni. Vedi PBC

## Caso 2

Maschio di 57 anni con diarrea cronica talvolta sangue. Ha prurito, ittero a localizzazione sclerale 3 sett prima. Ha spider naevi, ipertensione portale.

Si parla di un quadro cirrotico, ha anche splenomegalia, ha ittero. Va valutata la diarrea talvolta sanguinolenta.

La diarrea grassa è schiumosa se da malassorbimento di grassi. Altro elemento di grossa informazione è sospetto di Colite Ulcerosa. Vedi anche colangite sclerosante primitiva che ha stretta associazione con la colite ulcerosa. Non abbiamo anti mitocondrio ma se siamo fortunati ma Ab anti citoplasma. In caso di sospetto di colangite sclerosante primitiva . chiedo colonoscopia, biopsia.

## Caso 3

Immigrata ungherese di 13 anni con ritardo di crescita, con alterazioni cardiologiche, murmure aggiunto, ittero sclerale, colestasi importante, colestasi senza citoloisi. Anche qui la fosfatasi alcalina è rimarcata. No cerchiamo solo la gamma GT ma è importante la fosfatasi alcalina. Il ritardo di crescita è espressione di colestasi. È una forma genetica da colestasi. Vedi sindrome Allagille che da anomalie cardiologiche come disturbi valvolari, coartazione aortica. La Alagille da regola la differenziazione di varie linee cellulari, vedi geg 1

30.05.2008

Prof. Okolicsanyi

### **METABOLISMO DELLA BILIRUBINA -SALI BILIARI E IPERBILURBINEMIE FAMILIARI**

La tonalità giallastra delle sclere è importante per distinguere l'ittero (paziente che non si guarda spesso nello specchio). In molti casi di ittero abbiamo anche colorazione delle urine, con urine ipercromiche che sono dovute alla bilirubinuria.

Nelle donne e negli uomini la distribuzione della bilirubinemia è diversa. A Treviso come unità di misura si utilizza il mm/dL però è importante anche il mMol/L. Da un grafico della distribuzione della bilirubina serica nella popolazione normale si deduce che nelle donne i valori maggiori concentrati sono nelle prime parti della scala la dove le concentrazioni sono basse, viceversa negli uomini verso 10mMol/L per poi decrescere in modo progressivo. I valori medi negli uomini e donne differiscono. Malgrado questa evidenza, in termini clinici nessuno prende in considerazione, ma convenzionalmente si accettano come valori normali. A partire dal valore di 17 esiste nella popolazione normale una scala che porta una coda di bilirubinemia che racchiude donne e uomini che hanno la iperbilirubinemia familiare che non hanno disturbi. Le grosse tappe di origine della bilirubina sono la Hb, l'80% della bilirubina proviene da qui mentre 20% viene da EME di altri enzimi cioè l'anello comune di queste proteine. La bilirubina poi si mette in circolazione e si mette in contatto con l'EME ossigenasi che dall'anello tetrapirrolico libera i tre componenti principali per trasformazione per azione di un enzima che è la biliverdina riduttasi. La biliverdina liberata nel circolo generale arriva nel fegato trasportata da 1,2 o 3 molecole di albumina. È un legame abbastanza stretto ma non tale da non liberare l'albumina e liberare il suo legame o il suo trasportato e di trovare nella superficie della cellula epatica a dissociare i due componenti e lasciare l'anione organico legarsi ad un trasportatore della membrana cellulare sinusoidale. Assistiamo al processo di traslocazione ma meglio di captazione della bilirubina che arriva mediante questi passaggi e con un trasportatore noto. Questo trasportatore cede poi la bilirubina ad un altro trasportatore proteico nel citosol. Succede che nell'epatocita troveremo la bilirubina che è molto lipofila ed essendo lipofila è apolare e non è soggetta alla eliminazione biliare. La bile è fatta di 80% di H<sub>2</sub>O e affinché possa essere liberata dalla bile deve subire un processo di biotrasformazione che non è per tutti gli anioni organici un passaggio diretto, ma per molti altri avviene in due tappe che sono la ossidazione o idrossilazione, dealchilazione, ecc che rendono parzialmente polare il prodotto per arrivare alla sorte della bilirubina cioè la sua coniugazione con diverse sostanze come AA, solfati ecc che rendono la molecola decisamente polare. La bilirubina poi viene trasportata nei siti microsomiali dove si ha sorveglianza della coniugazione della bilirubina formando il mono e diglucuronide della bilirubina. È un processo di catalizzazione regolato dalla uridin-difosfo-glicuronico (UDPGA) rendendo la molecola idrosolubile per la eliminazione del bolo biliare dell'epatocita. Il processo di secrezione è mediato da ulteriore trasportatore e la bilirubina dall'epatocita viene convogliata nel bolo biliare ed eliminata con la bile. Alcuni pensavano ci fosse la capacità di storage della bilirubina nel fegato ma non si è ancora convinti.

### **OATP (organic anion transporting polypeptides)**

Trasportatori localizzati sulla membrana sinusoidale e permettono l'ingresso o l'estruzione di un ampio numero di molecole, tra cui sali biliari, bilirubina, ormoni tiroidei, steroidi. Un altro polipeptide della stessa famiglia, l'OATP2 trasporta all'interno dell'epatocita la bilirubina, sia la non coniugata che la mono- e la diglicuronoconiugata. Pur essendo verosimilmente la diffusione passiva della bilirubina nell'epatocita la modalità principale di trasporto, l'OATP2 può agire, nelle gravi iperbilirubinemie, nel diminuirne la concentrazione ematica.

Esiste poi la **MRP2** il quale è responsabile della eliminazione nell'albero biliare e successivamente nell'intestino. La flora batterica intestinale ha ulteriore effetto di cambiamento strutturale della bilirubina-glicuronide soprattutto per azione dell'enzima intestinale della beta-glicuronidasi responsabile della degradazione della bilirubina.

L'urina può apparire giallo citrino per la presenza di urobilina che una volta a contatto si ossida e si trasforma in urobilina da urobilinogeno.

Esiste un circolo entero-epatico analogo a quello dei sali biliari.

### **Gene Bilurbin-UDP-GT1A1**

Il gene UDP-GT1A1 è un gene che regola il metabolismo della bilirubina e si presenta in diverse isoforme, la isoforma A1 e TD che sono quasi perfettamente sovrapponibili.

Questo gene è caratterizzato dal **TATAA BOX promotore** che è la sequenza promotrice del gene che regola l'attività della RNA polimerasi in modo da garantire costante sequenziamento e trascrizione del gene in condizioni normali fatti da sequenza di aminoacidi AT. Invece di avere 7 coppie un TATAA BOX ne ha 6 e questo significa incompleta attività dell'enzima e la glicuronazione non sarà perfetta. Abbiamo documentato in un lavoro proveniente da lavori della calcolosi della colecisti, studiando la famiglia di queste persone iperbilirubinemiche. Nel 45% dei soggetti c'è un gene autosomiale che però non è sufficiente a produrre l'iperbilirubinemia nel sangue. C'è una bella quota di pazienti che ha ridotta sopravvivenza eritrocitaria media senza avere emolisi infesta e anche il sesso, cioè gli ormoni maschili e femminili svolgono un loro ruolo che la bilirubinemia non è identica nei due sessi, è quindi una condizione multifattoriale.

Da studi circa la clearance e/o comunque epurazione ematica della bilirubina cristallina iniettata in vena si distinguono due popolazioni: normali e affetti da Sindrome di Gilbert.

### **Sindrome di Gilbert**

Di sindrome però non si deve parlare in quanto la patologia non si presenta come un insieme di sintomi, se non subittero sclerale. Gilbert era un medico di Parigi che ha descritto per primo questa condizione e è una patologia benigna del fegato che si manifesta con iperbilirubinemia, spesso nel secondo decennio di vita. Se prendiamo un soggetto normale e uno iperbilirubinemico (5-8%) iniettando la bilirubina preparata in vena troviamo che se mettiamo in scala abbiamo che: la quarta ora dopo iniezione troviamo concentrazione della % di bilirubina iniettata che non supera 7-8%. L'andamento della curva che è veloce e rapida per eliminare la bilirubina è rallentata perché la captazione o meglio la coniugazione sono rallentati.

Altra forma interessante di prova di questa iperbilirubinemia la troviamo in che modo dieta e alimentazione può influenzare la bilirubinemia. In un giovane di 20-25 anni studiando per diversi giorni i valori della bilirubinemia si è visto che viaggiavano a 2-6mg/100ml. Assumendo 4 mele al giorno (400Kcal) cioè alimentazione ipocalorica equivalenti al digiuno. La rialimentazione comporta un ritorno ai valori normali e il digiuno e alimentazione ipocalorica influenza la situazione.

La **sindrome di Gilbert** è quindi una condizione caratterizzata da ittero cronico e iperbilirubinemia prevalentemente indiretta, a carattere familiare, senza evidenti segni di emolisi. La prevalenza è intorno al 3-7% della popolazione. L'esordio dell'ittero è piuttosto tardivo, attorno ai 15-18 anni di età.

La sindrome viene trasmessa in modo autosomico dominante con penetranza incompleta.

L'iperbilirubinemia è dovuta ad un difetto genetico nella regione promotore del gene dell'uridin-difosfo-glucuronil-trasferasi, mentre la sequenza nucleotidica dei 5 esoni e della giunzione intron-esone è conservata. I soggetti con la sindrome sono omozigoti per questa mutazione, ma tale fatto non è sufficiente a causare incremento della bilirubinemia e subittero, in quanto sono necessarie combinazioni di altri difetti genetici e di altri fattori. I valori della bilirubinemia oscillano tra 1,50 e 5mg/100mL. L'obiettività a parte l'ittero sclerale è negativa. I sali biliari risultano normali. L'unica anomalia evidenziabile nel 40% dei soggetti è una diminuzione della vita media eritrocitaria. Il deficit emolitico quindi sembra avere un certo ruolo nella malattia.

Importante è la riduzione della clearance della bilirubina con captazione del pigmento rallentato, mentre la coniugazione della bilirubina è significativamente ridotta.

Da tenere presente che dopo somministrazione di induttori enzimatici (fenobarbital) l'iperbilirubinemia si riduce, mentre nella bile i diclucoronidi della bilirubina aumentano. Non è necessario però somministrare induttori enzimatici ai soggetti affetti, se non per motivi cosmetici nelle giovani donne.

### **Sindrome di Crigler-Najjar tipo I**

Si tratta di una rara malattia genetica a trasmissione autosomica recessiva. Si manifesta con ittero grave, a decorso progressivo, causato da un difetto congenito dell'attività enzimatica della uridin-difosfo-glicuronil-trasferasi situata nei microsomi delle cellule epatiche. In questa patologia abbiamo alterazioni molto più significative della Gilbert, e contrariamente a questo non abbiamo TATAA BOX alterato, ma esoni almeno 5 che subiscono importanti alterazioni come stop e mutazioni importanti con variazione della composizione della sequenza aminoacidica. Nella sindrome di CN l'attività enzimatica è praticamente nulla. Questi individui saranno congenitamente sempre itterici.

La malattia si può manifestare in due forme:

- **forma I:** molto rara con ittero nei primi giorni di vita con bilirubina che supera costantemente i 20mg/100mL. La bilirubina non potendo essere smaltita si accumula progressivamente nel circolo e nei tessuti con sviluppo di ittero nucleare per depositi di bilirubina non coniugata nel SNC (soprattutto nucleo caudato e nucleo rosso). La bile in questi pazienti è incolore. Anche dopo somministrazione di induttori la bilirubinemia non si riduce. La prognosi è infausta in quanto questi pazienti raramente superano i 20-25 anni di vita.
- **forma II:** caratterizzato da valori di bilirubina più bassi (5-20mg/100mL). L'attività enzimatica è ridotta ma non assente, la bile è colorata e contiene prevalentemente bilirubina monoconiugata. Non vi sono segni di emolisi e sono normali gli indici di funzionalità epatica. La prognosi è relativamente buona, i pazienti generalmente sopravvivono a lungo senza manifestazioni neurologiche. Nel tipo II la mutazione è ridotta e riguarda anche il TATAA BOX con mutazione di inserzione. Per questo i pazienti hanno maggiore capacità di coniugare la bilirubina e le alterazioni genetiche sono meno evidenti e hanno processi di induzione enzimatica.

### **Diagnostica differenziale con soggetti in iperbilirubinemia**

L'anamnesi e l'EO oltre che le prove di funzione epatica che valori serici dei sali biliari devono essere esaminati regolarmente.

La quota prevalentemente non coniugata devono fare sospettare una patologia epatica. Dobbiamo poi sospettare se coniugata o meno:

- **non coniugata:** può esserci emolisi con eccessiva produzione di bilirubina non coniugata. Bisogna quindi escludere l'emolisi e quindi elettroforesi della Hb, talassemia, resistenza osmotica eritrocitaria, sferocitosi, oppure vedere se ci sono altri Ab. Se il paziente ha una bilirubina che raramente supera i 5mg/dL allora si sospetta di Gilbert. Se i valori invece viaggiano tra 6-25 o anche oltre si sospetta la Sindrome di CN. Tipo I se supera 25mg/dl (terapia indiretta è exiubantivus in latino). La dove enzima è modificato possiamo usare induttore e dire che è tipo due.
- **coniugata:** ridotta escrezione biliare causa

La Sindrome Crigler-Najjar di tipo II si tratta con farmaci induttori come il fenobarbitale che somministrati al paziente abbassano i valori della bilirubina. Per il tipo I siamo messi male: circa 10 anni fa nel registro mondiale non c'erano più di 56 pazienti dei quali la metà circa ha subito trapianto che garantisce perfetta sopravvivenza. Questo fegato è perfetto, ma una fesseria cioè una inezia, una banalità molecolare di un AA che manca congenitamente porta al trapianto di fegato. Si trapianta perché la bilirubina è liposubile e non viene eliminato se non coniugato e viaggia ad alti valori nel sangue legandosi al snc in quanto lipofilo ed è un tessuto grasso e si lega ai nuclei della base ed è quindi incompatibile con la vita e in questi soggetti pertanto si fa anche fototerapia per potere produrre dei prodotti di degradazione luminosa della bilirubina che cambia la struttura della bilirubina rompendo l'anello tetrapirrolico rendendo la bilirubina polare e idrosolubile. Prima o poi si finisce nel trapianto. Ci sono stati tentativi di trapianto di epatociti da fegati espantati in anestesia locale. Sembrava grande invenzione ma si è visto che anche gli epatociti hanno una certa vita. Grandi speranze sono rivolte verso le cellule staminali.

### **Ittero del neonato e del lattante**

Questi soggetti hanno l'ittero fisiologico del neonato. Anche questo è una anomalia, non è un ittero fisiologico. L'ittero fisiologico del neonato è come la sindrome di Gilbert, non corretta, ittero neonatale cioè del neonato, ma non è presente in tutti i neonati, ma solamente in quelli che nascono prematuri. Questo è dovuto per la poca maturità respiratoria così come la poca attività della funzione epatica con le varie tappe metaboliche non soltanto della produzione: c'è esagerata produzione di bilirubina in presenza di ridotta captazione, ridotto trasporto, coniugazione ed escrezione. Nell'intestino di questi bambini c'è un'attività beta glicuronidasica molto elevata e fa si

che la poca bilirubina che arriva coniugata viene scissa e riassorbita e immessa in circoli enteroepatici e quindi determinando ittero. L'ittero supera 10,15-20mg/dL.

Per questa evenienza i pediatri hanno già i box pronti per la fototerapia. È sufficiente metter i bambini in trattamento massimo per una settimana non prolungata per più di 24 ore.

### **Sindrome di Dubin-Johnson**

Si tratta di una rara forma di ittero familiare (autosomica recessiva) conseguente alla perdita di funzione della proteina carrier della bilirubina (MRP2). Esistono più mutazioni a carico del gene della MRP2 in grado di determinare la perdita di funzione. La malattia ha andamento cronico intermittente e l'iperbilirubinemia (valori oscillano tra 2-5mg/100mL) è dovuta prevalentemente alla forma coniugata.

L'ittero compare nell'adolescenza e si può aggravare in corso di malattie ricorrenti, in gravidanza o per uso di contraccettivi orali. Nelle urine possono esserci pigmenti binari e un'aumentata quantità di urobilinogeno (le feci sono normalmente colorate). Non vi sono segni di emolisi. I soggetti spesso non lamentano alcun disturbo, occasionalmente astenia, dispepsia, dolore all'ipocondrio dx. L'EO escluso ittero sclerale e cutaneo è negativo.

Caratteristica della DJ è la mancata visualizzazione della colecisti alla colecistografia per os in quanto MRP2 trasporta, oltre alla bilirubina, anche altri anioni organici e quindi anche dei mezzi di contrasto.

Altra caratteristica è l'ittero del fegato nero per la colorazione scura del fegato.

Nel campione bioptico infatti vediamo che nel polo bilare degli epatociti abbiamo accumulo di una pigmentazione che se è esposto il campione epatobioptico alla luce stimolante della fluorescenza mette in evidenza autofluorescenza normale. L'intensa fluorescenza è dovuto alla lipofuscina che è la spazzattrua nella cellula epatica, rappresenta tutti i prodotti di degradazione dei componenti molecolari della cellula epatica, dal nucleo, REL, RER, glicogeno, mitocondri ecc. Una prova diagnostica che si usava per dire che questi pazienti hanno questa condizione è descritta originariamente da due medici militari americani negli anni 50 i quali hanno visto che se si inietta ev un prodotto che è la bromosulfareina, in ragione della eliminazione si andava a vedere la concentrazione serica a distanza dalla iniezione quanta BSF stava in circolazione e se la concentrazione supera 45% della quantità iniettata il fegato era malato altrimenti normale. Si è visto un rebound in circolo della sostanza iniettata e traducendo in termini clinici quello che si registra nel sangue si dice che all'inizio a riduzione plasmatica significa captazione da parte del fegato, e successivamente vuol dire metabolizzazione poi

però dall'epatocita ritorna in modo invariato e ritorna in circolo e vuol dire che c'è un blocco a valle.

### **Sindrome di Rotor**

Patologia genetica rara a trasmissione autosomica recessiva. Fino a poco tempo fa veniva considerata una variante della sindrome di Dubin-Johnson, dato che nell'ambito della stessa famiglia venivano osservate forme intermedie. Le due forme però sono distinte in quanto:

- nella Rotor la visualizzazione della colecisti è normale
- nella Rotor le porfirine urinarie totali sono aumentate
- nella Rotor l'esame morfologico macroscopico e ottico del fegato è normale.

La prognosi è buona e non vi è necessità di terapia.

Di fronte a soggetti con iperbilurbinemia coniugata ci troviamo di fronte ad un'altra condizione descritta da un medico filippino che era differente da questa precedente forma di iperbilurbinemia coniugata diversa dalla Dubin-Johnson. La forma di Rotor non riusciamo però a comprendere. Il trasporto massimo è accumulo della bilirubina che è aumentato a livello del fegato. La pigmentazione nell'epatocita non c'è mentre nel Dubin-Johnson sì. Poi abbiamo alterazione della secrezione della coproporfirina. Attualmente si tratta di una condizione rara, molto rara, non rappresenta assolutamente un problema diagnostico prognostico, è descritta e meglio caratterizzata. Se vogliamo riportare quello che abbiamo discusso è che esistono iperbilurbinemia ereditaria-familiari. Coniugate e non coniugate e tra queste la forma più frequente è al Gilbert.

L'importanza della diagnosi è importante per garantire a questi soggetti una buona prognosi e magari intervenire con farmaci induttori.

### **Farmaci & Bilirubina**

L'effetto dei farmaci sui trasportatori non è inteso come citolisi e quando c'è citolisi abbiamo transaminasi elevate. Qui invece abbiamo selettivi induttori su determinate tappe del metabolismo della bilirubina. La captazione può essere negativamente influenzabile da statine, derivati della penicillina, glitazine che è usato nel diabete. Su MRP2 ci sono interferenze estremamente importanti. Uno dei più importanti è irinotecan (antitumorale). Se insorge ittero in questi pazienti abbiamo interferenza su MRP2. Altri agenti chemioterapici agiscono su questi trasportatori. La conoscenza delle varie tappe del metabolismo della bilirubina dà luogo alla interpretazione di farmaci abitualmente impiegati.

Oggi le iperbilirubinemie isolate nell'adulto e nel bambino sono classificate come segue:

**Iperbilirubinemie isolate nell'adulto e nel bambino**

<b>Adulto</b>	<b>Bambino</b>	<b>Forme acquisiti</b>
Sindrome di Gilbert	Ittero fisiologico	Emolisi (da auto-Ab da test di Coombs)
Sindrome di Dubi-Johnson	Ittero da latte materno (ricco di beta glicuronidasi)	Xenobiotici
Sindrome di Rotor	Sindrome di Crigler-Najjar	Post-operatorio (per sanguinamento, farmaci ecc)
Emolisi (talassemie, sferocitosi)	Polimorfismi UDP-GT	Doantori
	Associazione Gilbert con emolisi (deficienza G6-PDH)	

**Iperbilirubinemie Coniugate&Non coniugate**

<b>Iperbilirubinemie Coniugate</b>	<b>Iperbilirubinemie Non coniugate</b>
Sindrome di Crigler-Najjar 1 e 2	Sindrome di Dubi-Johnson
Sindrome di Gilbert	Sindrome di Rotor