

## RELAZIONE ANNUALE

<b>Titolo dello studio:</b>	
Metabolomics Profiles of Italian NAFLD patients: the weight of Steatosis, Steatohepatitis, Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma	
<b>Responsabile (Principal Investigator)</b>	Prof. Marcello Persico
<b>Data di inizio studio (mese/anno)</b>	07/2017
<b>Data presunta di termine studio (mese/anno)</b>	07/2019
<b>Descrizione dell'attività svolta (max 400 parole)</b>	
<p>L'avvio delle attività ha previsto una prima fase di stesura del protocollo sperimentale e di approvazione dello stesso da parte del comitato etico competente. L'arruolamento ha avuto inizio nel mese di luglio 2017. Ad oggi sono stati arruolati ed inclusi nello studio 169 soggetti, di cui 69 controlli sani, 56 affetti da NAFLD, 14 da NASH, 8 con cirrosi su NASH, 5 con HCC su NASH e 8 con cirrosi criptogenetica. Altri 9 pazienti sono risultati affetti da epatite HCV o HBV relata e quindi sono stati esclusi dallo studio. Dopo la raccolta anamnestica, questi pazienti sono stati sottoposti a visita internistica, ad ecografia epatica, a biopsia epatica e ad un prelievo ematico per le indagini biochimiche. Ciascun campione di siero dei pazienti arruolati è stato sottoposto, dopo specifico trattamento di estrazione e derivatizzazione dei metaboliti, ad analisi gas-cromatografiche e di spettrometria di massa allo scopo di ottenere un pattern metabolomico da associare ad uno specifico isotipo epatico. I cromatogrammi prodotti dalle analisi gas-cromatografiche e di spettrometria di massa dei campioni biologici di tali pazienti sono stati normalizzati e corretti sull'area del picco dello standard interno. Dai cromatogrammi ottenuti da ciascun campione, sono stati estratti dati riguardanti le concentrazioni relative delle varie molecole rilevate.</p> <p>I dati ottenuti sono stati analizzati attraverso tecniche parametriche e non parametriche con l'ausilio dello strumento informatico R, e successivamente sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA). Gli stessi sono poi stati sottoposti, dopo essere stati scalati centrando la media e ponendo la varianza come uguale a 1, ad analisi delle componenti principali per mezzo della trasformata di Karhunen-Loève e successivamente ad analisi di tipo discriminante tra le categorie di tipo PLS-DA (Partial Least Squares - Discriminant Analysis). I modelli sono stati ottimizzati minimizzando il misclassification rate. Dal modello ottimizzato sono state estratte le "Variables Important in Projection", ipotizzando come significative quelle con un VIP score superiore a 1. Il modello PLS-DA ha mostrato una buona separazione tra le classi (<math>R^2=0.875</math>, <math>Q^2=0.794</math>) e una rappresentazione di classe comparabile con i segni clinici ed istologici di progressione della patologia epatica. L'acido glicocolico, l'acido taurocolico, la fenilalanina, gli amminoacidi a catena ramificata (valina, leucina e isoleucina) sono risultati aumentati nella progressione del danno epatico, mentre il glutatone era diminuito.</p>	

**Problematiche riscontrate e proposte di soluzione (max 200 parole)**

La numerosità campionaria raggiunta con l'attuale reclutamento non è ancora in linea con quella valutata prima dello studio e questo soprattutto a causa della scarsa adesione di altri centri di prelievo allo studio. È attualmente in fase di valutazione un incremento delle tempistiche di reclutamento, al fine di arginare questa difficoltà. Sono inoltre in fase di implementazione, ulteriori indagini statistiche che possano meglio rappresentare l'evoluzione del profilo metabolomico nel corso dell'evoluzione della steatosi epatica. Il rilevante numero di pazienti affetti da cirrosi criptogenetiche ha inoltre suggerito un ulteriore confronto per meglio comprendere il peso dei fattori legati alla sindrome metabolica su questa progressione.