

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II



**DOTTORATO DI RICERCA IN
FISIOPATOLOGIA CLINICA E SPERIMENTALE**

XVII Ciclo 2002 - 2006

COORDINATORE: PROF. GIANNI MARONE

TESI DI DOTTORATO

**DETERMINANTI IN VIVO DEI
LIVELLI CIRCOLANTI DI PAI-1.
RISULTATI DELL'OLIVETTI HEART STUDY**

TUTORE

Chiar.mo Prof.

Pasquale Strazzullo

CANDIDATO

Dott. Antonio Barbato

Indice

<u><i>Introduzione</i></u>	<i>Pag. 3</i>
<u><i>Pazienti e Metodi</i></u>	<i>Pag. 6</i>
<u><i>Risultati</i></u>	<i>Pag. 11</i>
<u><i>Discussione</i></u>	<i>Pag. 14</i>
<u><i>Conclusioni</i></u>	<i>Pag. 20</i>
<u><i>Bibliografia</i></u>	<i>Pag. 21</i>
<u><i>Tabelle</i></u>	<i>Pag. 33</i>

INTRODUZIONE

Il PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor 1) è il principale inibitore dell'attivazione del plasminogeno in vivo (1-2). Livelli elevati di PAI-1 sono associati a patologia aterotrombotica e ad un maggior rischio di eventi cardiovascolari (2-7). È stato osservato che la concentrazione plasmatica di PAI-1 aumenta in condizioni come l'insulino-resistenza (8), l'obesità, particolarmente quella viscerale (1,9-10) e la sindrome metabolica (11). Queste stesse condizioni, in particolare l'ipertensione arteriosa, il diabete e la dislipidemia (12-15) ricorrono frequentemente anche nella steatosi epatica, che si associa a sua volta ad un aumento del rischio cardiovascolare.

Il PAI-1 è sintetizzato e secreto da cellule endoteliali, monociti, adipociti, epatociti e fibroblasti (16-17). Gli epatociti, in particolare, contenendo alte quantità di PAI-1 mRNA (1), sono potenzialmente in grado di sintetizzare quantità relativamente grandi di questa sostanza. D'altra parte, nell'obesità, in relazione all'espansione del tessuto adiposo, gli adipociti potrebbero diventare la principale fonte di PAI-1 circolante (2), che potrebbe tra l'altro esercitare localmente un ruolo nel rimodellamento tissutale caratteristico dell'obesità (18-19).

Numerosi studi hanno valutato il pattern di associazione tra fattori di rischio cardiovascolare, in particolare obesità e insulino-resistenza, la steatosi epatica e livelli di PAI-1 circolanti, giungendo a conclusioni contrastanti: una correlazione significativa e indipendente tra la concentrazione di PAI-1 e i livelli sierici di transaminasi (20-21), utilizzati come indice indiretto di steatosi epatica, è stata riportata già a metà degli anni novanta e confermata da una successiva analisi in un

piccolo campione di soggetti di sesso maschile apparentemente sani in cui la steatosi epatica veniva valutata con metodica ecografica. In questo studio, la relazione tra PAI-1 e steatosi epatica si associava ad ipertrigliceridemia e iperinsulinemia (22). Più recentemente, in un gruppo di 100 individui adulti sani di sesso maschile con o senza steatosi epatica valutata sia con metodica ecografia che con tomografia computerizzata, i livelli di PAI-1 risultavano associati alla steatosi, ma l'associazione non era più presente dopo l'aggiunta nel modello statistico del volume di grasso viscerale, valutato mediante tomografia (23). Un ulteriore contributo è stato fornito da uno studio su un gruppo di 34 diabetici giapponesi con o senza obesità, in cui il contenuto di grasso epatico è stato valutato con la risonanza magnetica. In questo studio il grado di steatosi epatica è risultato associato ai livelli di PAI-1 e all'indice di massa corporea (IMC), ma non al grasso viscerale (24).

Uno studio sui topi ob/ob, un modello sperimentale di insulino-resistenza, sembra deporre a favore di una prevalenza del ruolo del tessuto epatico nella produzione di PAI-1 nell'obesità. In questo modello, infatti, i livelli plasmatici di PAI-1 sono risultati associati all'accumulo di grasso nel fegato piuttosto che nel tessuto adiposo (25). Sempre questo studio ha inoltre valutato un piccolo gruppo di biopsie epatiche umane (n=40), effettuate durante un intervento di gastroplastica in soggetti affetti da obesità patologica ($BMI > 35 \text{ kg/m}^2$). Dall'analisi di questi prelievi si concludeva che i livelli di PAI-1 erano direttamente associati al grado di steatosi epatica, così che il 26% dell'attività plasmatica del PAI-1 era spiegata in maniera indipendente dalla presenza di steatosi epatica e dai livelli di insulina (25).

Da questa breve disamina della letteratura sembra chiaro che esistono ancora numerose incertezze su quale sia il contributo individuale dei differenti fattori di

rischio cardiovascolare e della presenza di steatosi epatica sui livelli di PAI-1 circolante.

Lo scopo di questa tesi è quello di valutare in maniera sistematica l'effetto individuale e combinato dei differenti determinanti antropometrici e biochimici dei livelli di PAI-1 circolante con particolare riguardo alla steatosi epatica e alle misure di obesità nel più ampio campione di popolazione finora esaminato a tale scopo.

*P*AZIENTI E *M*ETODI

Popolazione studiata e procedure utilizzate

Tra novembre 2002 e maggio 2004 è stato condotto presso il Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale dell'Università di Napoli "Federico II", un esame di follow-up dell'Olivetti Heart Study, uno studio epidemiologico che coinvolge individui adulti di sesso maschile che fanno parte o hanno fatto parte della forza lavoro delle aziende Olivetti di Pozzuoli e Marcianise in Campania. Sono stati esaminati in totale 994 partecipanti di età compresa tra i 33 ed gli 82 anni. Essi sono stati visitati al mattino a digiuno in una tranquilla stanza di ambulatorio. Sono state raccolte le principali misure antropometriche, è stato praticato un prelievo di sangue venoso e somministrato un questionario per la raccolta delle informazioni demografiche comprensive del consumo alcolico giornaliero e della storia clinica. L'analisi statistica relativa a questa tesi è stata condotta in un campione di 254 partecipanti non selezionati con età compresa tra 53 e 79 anni sottoposti ad esame ecografico. La completa metodologia dell'Olivetti Heart Study è disponibile in letteratura (26-27). Il protocollo dello studio è stato approvato della commissione etica locale.

Misurazioni antropometriche, della pressione arteriosa, analisi biochimiche e strumentali

Il peso corporeo e l'altezza sono stati misurati con una bilancia standard che comprendeva un rullo scorrevole per la misurazione dell'altezza. Il peso corporeo è stato misurato approssimando a 0.1 kg e l'altezza al centimetro più vicino, con i soggetti vestiti con abiti leggeri e senza scarpe. L'indice di massa corporea è stato calcolato come peso in chilogrammi diviso per altezza in metri. La circonferenza della vita è stata misurata all'ombelico con il soggetto in piedi, l'addome rilassato, le braccia lungo i fianchi ed i piedi uniti. La pressione arteriosa è stata misurata dopo che il soggetto è rimasto seduto per almeno 10 minuti. La pressione arteriosa sistolica e diastolica (fase V) è stata misurata tre volte a distanza di due minuti con uno sfingomanometro a mercurio (Empire, Germany) validato in precedenza attraverso il confronto con uno sfingomanometro zero random (Gelman Hawksley Ltd, Sussex, England). La prima lettura della pressione arteriosa è stata scartata, mentre è stata registrata la media delle due successive misurazioni.

Dopo la misurazione della pressione arteriosa, col soggetto seduto ed a digiuno dalla sera precedente la visita, è stato praticato un prelievo di un campione di sangue venoso. I campioni di sangue sono stati immediatamente centrifugati e conservati a -70° fino al momento dell'analisi. La glicemia, il colesterolo HDL e totale (il colesterolo LDL è stato stimato utilizzando la formula di Friedwald), la trigliceridemia, l'uricemia, le concentrazioni plasmatiche dell'alanina transaminasi (ALT) e dell'aspartato transaminasi (AST) e della gamma glutamil transpeptidasi (γ GT) sono stati misurati con metodo automatico (Cobas-Mira, Roche, Italy), mentre la concentrazione d'insulina sierica è stata misurata attraverso un tecnica di

radioimmunoassay (Insulina Lisophase, Technogenetics, Milan, Italy). L'insulino-resistenza è stata stimata attraverso l'homeostasis model assessment (HOMA) usando la formula: $\text{insulinemia a digiuno } (\mu\text{U/mL}) * \text{glicemia a digiuno (mmol/L)}/22.5$, come descritto da Matthews e coll. (28). Sebbene questo metodo non dia una diretta misura dell'utilizzazione del glucosio insulino-dipendente, è stato validato rispetto al clamp euglicemico iperinsulinemico e considerato una ragionevole alternativa per stimare l'insulino-resistenza (29) in particolare negli studi epidemiologici. I livelli di PAI-1 sono stati misurati utilizzando una metodica ELISA (Oncogene Science, Bayer HealthCare LLC, Cambridge, MA 02142-1168, USA).

L'esame ecografico è stato praticato in 254 partecipanti utilizzando un apparecchio duplex-Doppler (Esaote-Hitachi 570 AU, Hitachi Medical Corporation, Japan) con un trasduttore convesso da 3.5 MHz. La maggiore ecogenicità del fegato rispetto alla corticale renale è stata utilizzata per la diagnosi di steatosi epatica (30). L'acquisizione intercostale destra, che mostra sullo stesso piano il lobo epatico destro e il rene destro, è stata utilizzata per stimare il contrasto fegato/rene in modo da evitare eventuali interferenze del grasso addominale e del meteorismo intestinale. Sulla base delle evidenze disponibili in letteratura (30-31) la steatosi si è graduata in funzione dell'entità dell'attenuazione posteriore del fascio ultrasonoro in tre diversi stadi:

- Lieve: non attenuazione posteriore del fascio ultrasonoro;
- Moderata: attenuazione posteriore del fascio ultrasonoro con diaframma ancora evidenziabile;
- Severa: marcata attenuazione posteriore del fascio ultrasonoro con diaframma

non più identificabile.

In confronto all'istologia, l'ecografia epatica ha mostrato di avere una sensibilità del 89% e una specificità del 93% (32) misure sicuramente accettabili per uno studio epidemiologico. Inoltre le misurazioni sono state eseguite da un unico operatore esperto, tale accorgimento è stato utilizzato per ridurre l'errore interoperatore.

Il grasso viscerale è stato misurato con scansione a livello dell'ombelico, come distanza tra il foglietto parietale peritoneale e la parete anteriore dell'aorta (grasso peritoneale) e con scansione all'epigastrio, come distanza dalla linea alba fino al foglietto peritoneale parietale (grasso preperitoneale).

Malattie Cardiovascolari: definizioni

I partecipanti sono stati definiti obesi se l'indice di massa corporea era superiore a 30 kg/m². La diagnosi di diabete mellito tipo 2 è stata posta se la glicemia a digiuno risultava maggiore di 126 mg/dL o i partecipanti riportavano di assumere terapia ipoglicemizzante al momento della visita. L'ipertensione arteriosa è stata definita come una pressione \geq 140 mmHg per la sistolica e/o 90 mmHg per la diastolica (o assumere al momento della visita farmaci antiipertensivi). La diagnosi di sindrome metabolica è stata posta in accordo con i criteri proposti dell'AHA/NHLBI (33).

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata realizzata utilizzando lo Statistical Package for the Social Sciences (SPSS-PC version 11; SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Dato che la

distribuzione dei livelli di PAI-1, di trigliceridi, dell'HOMA index, dell'AST, dell'ALT, della γ GT non si distribuivano in maniera normale, sono stati normalizzati attraverso la trasformazione logaritmica ed i valori trasformati sono stati utilizzati nelle analisi. L'analisi di correlazione parziale è stata utilizzata per valutare l'associazione tra le differenti variabili, aggiustando per età e trattamento farmacologico. L'analisi di regressione lineare o l'analisi della covarianza sono state utilizzate per valutare la relazione tra le variabili antropometriche, biochimiche ed ecografie studiate ed i livelli di PAI-1 e per valutare le differenze nei livelli di PAI-1 in accordo con il grado di steatosi epatica dopo correzione per le possibili covariate.

L'interazione tra i più potenti predittori dei livelli di PAI-1 è stata valutata aggiungendo in diversi modelli lineari generalizzati con l'età come covariata, in successione, i termini dei prodotti di "steatosi X circonferenza vita", "steatosi X grasso peritoneale", "steatosi X trigliceridi", "circonferenza vita X trigliceridi", "trigliceridi X grasso peritoneale", rispettivamente. La prevalenza dei fattori di rischio cardiovascolari tra i partecipanti con differente grado di steatosi sono stati valutati con il test κ^2 . I risultati sono stati espressi come media o media geometrica \pm il range o l'intervallo di confidenza al 95% (I.C. 95%) come specificato.

RISULTATI

Le principali caratteristiche della popolazione sono riportate nella [tabella 1](#). La prevalenza di obesità, sindrome metabolica, ipertensione arteriosa e diabete mellito tra i partecipanti allo studio era rispettivamente del 16.5%, 33.1%, 66.9% e del 15.0%. Trentuno partecipanti (12.2% del campione di popolazione studiato) erano in trattamento ipolipidemizzante. I partecipanti sono stati classificati in base al grado di steatosi epatica: dato il piccolo numero di partecipanti appartenenti al gruppo con grado severo di steatosi (n=4), questi ultimi sono stati accorpati con i partecipanti affetti da steatosi di grado moderato ed analizzati insieme a quelli come un gruppo unico (gruppo moderato-severo).

La [tabella 2](#) mostra le principali differenze nelle variabili biochimiche e nel consumo di alcool tra i partecipanti con differente grado di steatosi epatica. I partecipanti con steatosi epatica rispetto a coloro che non ne risultavano affetti presentavano un'età più avanzata e valori più alti di IMC, circonferenza vita, livelli di trigliceridi, HOMA index, PAI-1, ALT, γ GT e acido urico nel grasso preperitoneale e peritoneale. La differenza era direttamente associata al grado di epatosteatosi. Una differenza borderline è stata osservata per quanto riguarda la pressione arteriosa sistolica, mentre nessuna differenza è emersa rispetto alla pressione diastolica, ai livelli di colesterolemia e di AST e all'assunzione di alcool (tra coloro che ne facevano uso). La prevalenza di obesità, ipertensione arteriosa, diabete mellito e sindrome metabolica era più alta tra i partecipanti con il grado più alto di steatosi epatica rispetto ai

controlli sani ([tabella 2](#)).

I livelli di PAI-1 erano direttamente e significativamente associati con IMC, colesterolo totale, trigliceridi, HOMA index, ALT, γ GT, acido urico, grasso preperitoneale e peritoneale ed indirettamente con l'HDL colesterolo; nessuna associazione è stata osservata invece con l'età, la pressione arteriosa e l'AST ([tabella 3](#)). Dopo aggiustamento per età e per l'eventuale trattamento farmacologico antiipertensivo, ipoglicemizzante e ipolipidemizzante in atto, tutte queste associazioni sono risultate conservate eccetto quella con l'ALT ([tabella 3](#)). L'analisi di regressione lineare è stata utilizzata per valutare l'influenza delle singole variabili sui livelli di PAI-1. Data la forte collinearità tra alcune delle variabili studiate, ogni fattore è stato separatamente introdotto nel modello di regressione lineare con l'età come covariata. Inoltre, per confrontare l'effetto di ogni singola variabile sui livelli di PAI-1 è stato calcolato lo Z score per ognuna delle variabili. I risultati di questa analisi sono riportati nella [tabella 4](#). Tutte le misure di adiposità (circonferenza vita, IMC, e grasso peritoneale) erano direttamente associate ai livelli di PAI-1 con simile forza statistica. Anche i trigliceridi, la γ GT, l'HOMA index e l'acido urico risultavano fortemente e direttamente associati ai livelli di PAI-1. Le associazioni con il colesterolo LDL, il grasso preperitoneale, la pressione arteriosa sistolica e l'HDL sono risultate più deboli, ma ancora statisticamente significative. Nessuna differenza nel pattern di associazione è emersa dopo l'aggiustamento per terapia farmacologica in atto al momento della visita ([tabella 4](#)). In un modello statistico simile il grado di epatosteatosi è risultato associato ai livelli di PAI-1 anche dopo correzione per età e trattamento farmacologico. I partecipanti con epatosteatosi di grado lieve o moderato-severo mostravano un aumento statisticamente significativo ($P < 0.001$) dei

livelli di PAI-1 rispetto ai partecipanti sani ([tabella 4](#)).

Per valutare l'effetto relativo delle differenti variabili associate ai livelli di PAI-1, sono stati utilizzati modelli di regressione lineare multipla includendo l'età come covariata ed in successione i vari determinanti dei livelli di PAI-1 circolanti. Questa analisi ha mostrato che la circonferenza vita ed il grasso peritoneale spiegavano circa il 10% della variabilità dei livelli di PAI-1 (rispettivamente $R^2=0.12$ e 0.09). Aggiungendo nello stesso modello gli altri determinanti biochimici, la circonferenza vita (o il grasso peritoneale) ed i livelli di trigliceridi erano i fattori che mostravano un effetto diretto statisticamente significativo sui livelli di PAI-1 e questo modello spiegava il 20% della variabilità dei livelli di PAI-1. Quando nello stesso modello veniva inserita anche la steatosi epatica, l' R^2 aumentava a 0.23 , l'epatosteatosi ed i trigliceridi mostravano l'effetto più forte ($p<0.001$), la relazione con la circonferenza vita risultava attenuata ma ancora statisticamente significativa, mentre quella con il grasso peritoneale risultava borderline ($p=0.06$). Tutte queste relazioni non si modificavano dopo correzione per trattamento farmacologico ([tabella 5](#)). I livelli di PAI-1 rimanevano più elevati nei partecipanti con steatosi di grado lieve o moderato-severo rispetto ai sani anche dopo aggiustamento per gli altri determinati, potenziali fattori confondenti. La [tabella 6](#) mostra i valori medi dei livelli di PAI-1 in accordo con il grado di steatosi epatica, dopo aggiustamento per i potenziali fattori confondenti, prima e dopo l'aggiustamento per trattamento farmacologico.

In conclusione, l'analisi d'interazione non ha evidenziato nessuna interazione tra i determinanti dei livelli di PAI-1, indicando un contributo individuale indipendente di ogni singola variabile sui livelli di PAI-1 ([tabella 7](#)).

DISCUSSIONE

Questo studio ha valutato in un relativamente ampio campione di popolazione adulta di sesso maschile l'associazione tra i livelli di PAI-1, il grado di steatosi epatica ed i principali fattori antropometrici e biochimici di rischio cardiovascolare. Il risultato principale di questa analisi è che i livelli di PAI-1 sono risultati significativamente associati al grado di steatosi epatica, ai livelli di trigliceridi e alle misure di adiposità addominale dopo correzione per i principali fattori confondenti. Inoltre, l'analisi sistematica dell'interazione tra i fattori di rischio cardiovascolare ed il grado di steatosi epatica ha evidenziato il contributo indipendente di ciascuno di questi fattori sui livelli circolanti di PAI-1.

Come precedentemente indicato, pochi studi hanno valutato queste associazioni sia nell'uomo che in modelli animali. In sintesi, una correlazione significativa ed indipendente tra i livelli di PAI-1 e la concentrazione degli enzimi epatici (γ GT, AST e ALT) è stata riscontrata in un gruppo di 131 adulti iperlipidemici asintomatici di sesso maschile (21). Inoltre, una relazione diretta tra steatosi epatica, valutata mediante ecografia, ed i livelli di PAI-1 è stata dimostrata in un piccolo gruppo di 64 adulti di sesso maschile apparentemente sani (22). Per quanto riguarda gli studi su modelli animali, in conigli resi sovrappeso, iperlipidemici e con severa steatosi epatica indotta da una dieta ricca in colesterolo e grassi, i livelli plasmatici di lipidi e di PAI-1 aumentavano in misura statisticamente significativa rispetto al gruppo di controllo. In particolare si è visto che il contenuto di PAI-1 mRNA era marcatamente

aumentato nel fegato di questi animali con steatosi epatica (espressione di un modello sperimentale di insulino-resistenza) in confronto ai controlli (34). La somministrazione di pravastatina sembrerebbe inibire l'aumentata espressione del PAI-1 mRNA nei conigli con iperlipidemia e steatosi e di conseguenza ridurre i livelli circolanti di PAI-1 (35). Nel fegato del noto modello di topo geneticamente obeso ob/ob, che sviluppa steatosi epatica nelle prime fasi della vita, è stato osservato un aumento di due volte dell'espressione dei livelli di PAI-1 rispetto ai topi di controllo normali (17). La relazione tra livelli di PAI-1 e grado di steatosi epatica è stata ancora valutata in un altro studio su un modello murino di steatosi epatica indotta con l'alcool e in una popolazione di obesi severi. Nel modello murino, i livelli di PAI-1 plasmatici erano associati con l'espressione di PAI-1 nel fegato e con il grado di steatosi. Una relazione simile si osservava anche nei pazienti obesi (25). Più di recente, in un campione di 100 adulti sani studiati utilizzando l'ecografia e la tomografia computerizzata dell'addome (TC) per valutare il grado di steatosi epatica, il grasso viscerale, valutato anch'esso attraverso la TC risultava il più potente predittore dell'aumento dei markers dell'infiammazione, compreso il PAI-1, dopo correzione per i possibili fattori confondenti. In questo studio la steatosi epatica non influenzava più i livelli dei markers di flogosi quando il modello statistico veniva aggiustato per grasso viscerale (23).

I nostri risultati in parte confermano i dati riportati in letteratura, ma nella nostra analisi, condotta sul più ampio campione di popolazione finora studiato, il pattern di associazione è caratterizzato dal fatto che dopo la correzione per i possibili fattori confondenti, la steatosi epatica, la trigliceridemia e il grado di adiposità addominale risultano ciascuno indipendentemente associati ai livelli di PAI-1. Un modello lineare

generalizzato contenente questi fattori come variabili indipendenti e aggiustato per età spiega circa il 23% della variabilità dei livelli di PAI-1 e questo pattern di associazione non cambia dopo aggiustamento per l'eventuale trattamento farmacologico in corso.

La relazione con i livelli di trigliceridi non sorprende in quanto è stato dimostrato che le VLDL e i grassi insaturi inducono la secrezione di PAI-1 in colture di cellule endoteliali (36) e le VLDL stimolano l'espressione del gene del PAI-1 (37).

Una potenziale limitazione di questo studio è l'uso di una metodica indiretta, quale l'ecografia, per quantificare il grado di steatosi epatica. L'indagine ecografica, tuttavia, quando confrontata con l'esame istologico, ha mostrato di avere una sensibilità dell'89% e una specificità del 93% (32); inoltre, nel nostro studio, l'esame è stato praticato da un unico operatore esperto, limitando in questo modo la variabilità tecnica dovuta all'operatore. Altre tecniche, come la TC (23) o la risonanza magnetica nucleare (24), già in precedenza applicate in letteratura per studi su piccoli gruppi, non sono applicabili ad uno studio di popolazione sia per ragioni economiche che per i lunghi tempi di esecuzione degli esami.

Un'altra potenziale limitazione della nostra analisi è la mancanza del dosaggio sierologico degli anticorpi per le comuni forme di epatite cronica come l'HBV e l'HCV. Per limitare l'effetto confondente di questo potenziale bias, sono stati esclusi dall'analisi tutti i partecipanti che riferivano all'anamnesi di essere affetti da una forma di epatite cronica attiva o di assumere al momento farmaci per la cura dell'epatite cronica (interferone e/o antivirali).

Il consumo di alcool non è risultato associato né al grado di epatosteatosi né ai

livelli plasmatici di PAI-1 nella nostra popolazione. In letteratura esistono dati contrastanti su questo argomento: in uno studio su 2574 anziani di ambo i sessi dopo correzione per i potenziali fattori confondenti nessuna relazione è stata trovata tra il consumo di alcolici ed i livelli di PAI-1 (38), risultato confermato da un altro studio in cui il consumo regolare di modiche quantità di alcolici non sembrava avere effetti sulla fibrinolisi (39). Viceversa, in uno studio trasversale di popolazione su 3223 adulti non affetti da malattie cardiovascolari, arruolati tra i partecipanti allo studio Framingham Offspring Study, un alto consumo di alcolici (da 7 a 21 o più drinks a settimana) era associato ad un alto valore di livelli di PAI-1 circolante (40): tale dato è stato riportato anche da altri autori (41-42). Sembrerebbe esserci anche una relazione con il tipo di bevanda alcolica assunta, essendo stato riportato che il consumo di birra è associato ad alti livelli di PAI-1 (43). In un gruppo di 1862 partecipanti al National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study, solo un consumo di alcool superiore a 14.9 g/die risultava associato ad aumento dei valori di PAI-1 (44). I nostri risultati sono complessivamente in accordo con le evidenze riportate in letteratura in quanto in media il consumo alcolico tra i partecipanti era basso e la quasi totalità dei partecipanti assumeva vino piuttosto che altre bevande alcoliche (dati non riportati).

La steatosi epatica non dovuta ad un eccessivo consumo di alcolici è associata all'insulino-resistenza e ai componenti della sindrome metabolica (45). La sindrome metabolica, d'altro canto riconosce tra le sue componenti l'alterazione della fibrinolisi, in particolare attraverso l'aumento dei livelli di PAI-1 (46). Come sopra riportato, la relazione tra i livelli di PAI-1 e la steatosi epatica è stata confermata in modelli sperimentali animali così come in pazienti con obesità di grado severo, il che suggerisce che l'accumulo di grasso nel fegato possa contribuire all'aumento dei

livelli plasmatici di PAI-1. È stato inoltre proposto che l'aumento dei livelli di PAI-1 che si realizza nella sindrome metabolica sia in parte dovuto anche all'aumentata produzione di questa sostanza da parte del tessuto adiposo, sebbene l'eccesso di adiposità centrale non spieghi completamente questo fenomeno (25). Il nostro studio conferma l'ipotesi che la steatosi epatica contribuisce in maniera significativa ed indipendente a questo incremento, ma nello stesso tempo suggerisce che almeno altri due fattori contribuiscono indipendentemente all'aumento dei livelli di PAI-1 circolante, ossia i trigliceridi e la circonferenza vita.

Per quanto riguarda i meccanismi fisiopatologici che determinano lo sviluppo di steatosi epatica e conducono ad un aumento della sintesi epatica di PAI-1, un ruolo centrale è sicuramente giocato dall'insulino-resistenza. Infatti, anche se gli esatti meccanismi che portano allo sviluppo di steatosi non sono ancora del tutto chiari, la patogenesi di questa condizione è multifattoriale e l'insulino-resistenza, aumentando il flusso di acidi grassi liberi al fegato, determina un aumento nella produzione di trigliceridi (45), un accumulo di lipidi e un danno epatocitario. Recentemente è stato proposto che l'insufficienza microvascolare dovuta alla distorsione dell'architettura epatica data dal rigonfiamento degli epatociti per accumulo lipidico e la successiva fibrosi sono coinvolte nell'alterato scambio di ossigeno e nutrienti da parte degli stessi epatociti. Questa condizione determinerebbe un aumento della risposta infiammatoria (47) che si tradurrebbe tra l'altro nell'aumento sia del TNF-alfa che del Transforming Growth Factor-beta, due importanti citochine in grado di promuovere la sintesi di PAI-1 (48-49).

Recentemente la steatosi epatica è stata anche associata alla disfunzione endoteliale, all'aumento del rischio cardiovascolare (50-51) e alla formazione di placche carotidee

(52). Ancora una volta uno dei possibili meccanismi coinvolti in queste associazioni potrebbe essere l'aumento dei livelli di PAI-1 circolante: infatti questi ultimi risultano elevati in pazienti con malattia coronaria e possono giocare un ruolo importante nello sviluppo dell'aterotrombosi ostacolando la degradazione della fibrina. Modelli murini sperimentali hanno mostrato la capacità del PAI-1 di favorire lo sviluppo di trombosi in vivo sia nel territorio venoso che in quello arterioso (53). Inoltre studi epidemiologici hanno chiaramente mostrato il ruolo dei livelli di PAI-1 nello sviluppo del rischio cardiovascolare (53).

CONCLUSIONI

I risultati della nostra analisi, generalizzabili ad una popolazione di adulti caucasici di sesso maschile, indicano che i livelli di PAI-1 sono significativamente associati al grado di steatosi epatica, ai livelli di trigliceridi e alle misure di adiposità addominale dopo aggiustamento per i principali fattori confondenti. L'analisi sistematica d'interazione tra i fattori di rischio cardiovascolare ed il grado di steatosi epatica mostra un effetto indipendente di ciascuno di questi fattori sui livelli circolanti di PAI-1.

BIBLIOGRAFIA

1. Loskutoff DJ, Samad F.
The adipocyte and hemostatic balance in obesity: studies of PAI-1.
Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998;18(1):1-6.
2. Dellas C, Loskutoff DJ.
Historical analysis of PAI-1 from its discovery to its potential role in cell motility and disease.
Thromb Haemost 2005;93(4):631-40.
3. Vaughan DE.
PAI-1 and atherothrombosis.
J Thromb Haemost 2005;3(8):1879-83.
4. Margaglione M, Di Minno G, Grandone E, Vecchione G, Cementano E, Cappucci G, Grilli M, Simone P, Panico S, Mancini M.
Abnormally high circulation levels of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in patients with a history of Ischemic stroke.
Arterioscler Thromb 1994;14: 1741-5.
5. Thogersen AM, Jansson JH, Boman K, Nilsson TK, Weinehall L, Huhtasaari F, Hallmans G.

High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women. Evidence for the fibrinolytic system as an independent primary risk factor.

Circulation 1998;98:2241-7.

6. Hamsten A, de Faire U, Walldius G, Dahlen G, Szamosi A, Landou C, Blomback M, Wiman B.

Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction.

Lancet 1987;2:3-9.

7. Juhan-Vague I, Pyke SD, Alessi MC, Jespersen J, Haverkate F, Thompson SG.

Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris: ECAT Study Group: European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities.

Circulation 1996;94:2057-2063.

8. Juhan-Vague I, Alessi MC, Vague P.

Increased plasma plasminogen activator inhibitor-1 levels.

A possible link between insulin resistance and atherothrombosis.

Diabetologia 1991; 34:457-62.

9. Juhan-Vague I, Alessi MC, Mavri A, Morange PE.

Plasminogen activator inhibitor-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk.

J Thromb Haemost 2003;1(7):1575-9.

10. Appel SJ, Harrell JS, Davenport ML.

Central obesity, the metabolic syndrome, and plasminogen activator inhibitor-1 in young adults.

J Am Acad Nurse Pract 2005;17(12):535-41.

11. Mertens I, Verrijken A, Michiels JJ, Van der Planken M, Ruige JB, Van Gaal LF.

Among inflammation and coagulation markers, PAI-1 is a true component of the metabolic syndrome.

Int J Obes (Lond) 2006;30(8):1308-14.

12. Akahoshi M, Amasaki Y, Soda M, Tominaga T, Ichimaru S, Nakashima E, Seto S, Yano K.

Correlation between fatty liver and coronary risk factors: A population study of elderly men and women in Nagasaki, Japan.

Hypertens Res. 2001; 24: 337-43.

13. Osono Y, Nakajima K, Hata Y.

Hypertriglyceridemia and fatty liver: Clinical diagnosis of fatty liver and lipoprotein profiles in hypertriglyceridemic patients with fatty liver.

J Atheroscl Thromb. 1995; 2(Suppl 1): S47- S52.

14. Banerji MA, Buckley MC, Chaiken RI, Gordon D, Lebovitz HE, Kral JG.
Liver fat, serum triglycerides and visceral adipose tissue in insulin-sensitive and insulin-resistant black man in NIDDM.
Int J Obes. 1995; 19: 846-850.

15. Goto T, Onuma T, Takebe K, Kral JG.
The influence of fatty liver on insulin resistance in non-diabetic Japanese subjects.
Int J Obes. 1995; 19: 841-45.

16. Kruithof EKO.
Plasminogen activator inhibitor type 1: biochemical, biological and clinical aspects.
Fibrinolysis 1988; 2: 59-70.

17. Samad F, Loskutoff DJ.
Tissue distribution and regulation of plasminogen activator inhibitor-1 in obese mice.
Mol Med 1996; 2: 568-82.

18. Mertens I, Van Gaal LF.
Visceral fat as a determinant of fibrinolysis and hemostasis.
Semin Vasc Med. 2005;5(1):48-55.

19. Schafer K, Fujisawa K, Konstantinides S, Loskutoff DJ.
Disruption of the plasminogen activator inhibitor 1 gene reduces the adiposity and improves the metabolic profile of genetically obese and diabetic ob/ob mice.
FASEB J 2001;15(10):1840-2.

20. Ikai E, Ishizaki M, Suzuki Y, Ishida M, Noborizaka Y, Yamada Y.
Association between hepatic steatosis, insulin resistance and hyperinsulinaemia as related to hypertension in alcohol consumers and obese people.
J Hum Hypertens 1995; 9: 101-5.

21. Bruckert E, Ankri A, Giral P, Turpin G.
Relation between plasminogen activator inhibitor-1 and hepatic enzyme concentrations in hyperlipidemic patients.
Thromb Haemost 1994;72(3):434-7.

22. Cigolini M, Targher G, Agostino G, Tonoli M, Muggeo M, De Sandre G.
Liver steatosis and its relation to plasma haemostatic factors in apparently healthy men--role of the metabolic syndrome.
Thromb Haemost 1996;76(1):69-73.

23. Targher G, Bertolini L, Scala L, Zoppini G, Zenari L, Falezza G.
Non-alcoholic hepatic steatosis and its relation to increased plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction in non-diabetic men. Role of visceral adipose tissue.

Diabet Med 2005;22(10):1354-8.

24. Ishii M, Yoshioka Y, Ishida W, Kaneko Y, Fujiwara F, Taneichi H, Miura M, Toshihiro M, Takebe N, Iwai M, Suzuki K, Satoh J.

Liver fat content measured by magnetic resonance spectroscopy at 3.0 tesla independently correlates with plasminogen activator inhibitor-1 and body mass index in type 2 diabetic subjects.

Tohoku J Exp Med 2005;206(1):23-30.

25. Alessi MC, Bastelica D, Mavri A, Morange P, Berthet B, Grino M, Juhan-Vague I.

Plasma PAI-1 levels are more strongly related to liver steatosis than to adipose tissue accumulation.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2003;23(7):1262-8.

26. Cappuccio FP, Strazzullo P, Farinaro E, Trevisan M.

Uric acid metabolism and tubular sodium handling. Results from a population-based study.

JAMA 1993;270:354-9.

27. Strazzullo P, Barba G, Cappuccio FP, Siani A, Trevisan M, Farinaro E, Pagano E, Barbato A, Iacone R, Galletti F.

Altered renal sodium handling in men with abdominal adiposity. A link to hypertension.

J Hypertens 2001;19:2157-64.

28. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC.
Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from
fasting plasma glucose and insulin concentrations in man.
Diabetologia 1985; 28:412-9.
29. Bonora E, Kiechl S, Willeit J, Oberhollenzer F, Egger G, Targher G.
Prevalence of insulin resistance in metabolic disorders: the Bruneck Study.
Diabetes 1998; 47:1643-9.
30. Yajima Y, Ohta K, Narui T, Abe R, Suzuki H, Ohtsuki M.
Ultrasonographical diagnosis of fatty liver: significance of the liver-kidney
contrast.
Tohoku J Exp Med 1983; 139:43-50.
31. Celle G, Savarino V, Picciotto A, Magnolia MR, Scalabrini P, Doderio M.
Is hepatic ultrasonography a valid alternative tool to liver biopsy? Report on 507
cases studied with both techniques.
Dig Dis Sci. 1988;33:467-71.
32. Joseph AEA, Saverymuttu SH, Al-Sam S, Cook MG, Maxwell JD.
Comparison of liver histology with ultrasonography in assessing diffuse
parenchymal liver disease.
Clin Radiol 1991;43(1):26-31.

33. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR *et al.*; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute.

Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement.

Circulation 2005; 112: 2735-52.

34. Fan JG, Chen LH, Xu ZJ, Zeng MD.

Overexpression of hepatic plasminogen activator inhibitor type 1 mRNA in rabbits with fatty liver.

World J Gastroenterol 2001;7:710-2.

35. Fan J, Chen L, Zeng M.

Effects of pravastatin on hepatic plasminogen activator inhibitor 1 mRNA expression in rabbits with fatty liver.

Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi 2000, 8:70-2.

36. Nilsson L, Gafvels M, Musakka L, Ensler K, Strickland DK, Angelin B, Hamsten A, Eriksson P.

VLDL activation of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) expression: involvement of the VLDL receptor.

J Lipid Res 1999;40(5):913-9.

37. Olufadi R, Byrne CD.

Effects of VLDL and remnant particles on platelets.

Pathophysiol Haemost Thromb 2006;35(3-4):281-91.

38. Volpato S, Pahor M, Ferrucci L, Simonsick EM, Guralnik JM, Kritchevsky SB, Fellin R, Harris TB.

Relationship of alcohol intake with inflammatory markers and plasminogen activator inhibitor-1 in well-functioning older adults: the Health, Aging, and Body Composition study.

Circulation 2004, 109:607-12.

39. van Golde PM, Hart HCh, Kraaijenhagen RJ, Bouma BN, van de Wiel A.

Regular alcohol intake and fibrinolysis.

Neth J Med 2002, 60:285-8.

40. Mukamal KJ, Jadhav PP, D'Agostino RB, Massaro JM, Mittleman MA, Lipinska I, Sutherland PA, Matheney T, Levy D, Wilson PW, Ellison RC, Silbershatz H, Muller JE, Tofler GH.

Alcohol consumption and hemostatic factors: analysis of the Framingham Offspring cohort.

Circulation 2001, 104:1367-73.

41. Sasaki A, Kurisu A, Ohno M, Ikeda Y.

Overweight/obesity, smoking, and heavy alcohol consumption are important determinants of plasma PAI-1 levels in healthy men.

Am J Med Sci 2001,322:19-23.

42. Numminen H, Kobayashi M, Uchiyama S, Iwata M, Ikeda Y, Riutta A, Syrjala M, Kekomaki R, Hillbom M.

Effects of alcohol and the evening meal on shear-induced platelet aggregation and urinary excretion of prostanoids.

Alcohol Alcohol 2000,35(6):594-600.

43. Marques-Vidal P, Montaye M, Haas B, Bingham A, Evans A, Juhan-Vague I, Ferrieres J, Luc G, Amouyel P, Arveiler D, Yarnell J, Ruidavets JB, Scarabin PY, Ducimetiere P.

Relationships between alcoholic beverages and cardiovascular risk factor levels in middle-aged men, the PRIME Study. Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction Study.

Atherosclerosis 2001,157:431-40.

44. Djousse L, Pankow JS, Arnett DK, Zhang Y, Hong Y, Province MA, Ellison RC.

Alcohol consumption and plasminogen activator inhibitor type 1: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study.

Am Heart 2000,139:704-9.

45. Adams LA, Angulo P.

Recent concepts in non-alcoholic fatty liver disease.

Diabet Med 2005,22:1129-33.

46. Reaven GM.

Role of insulin resistance in human disease (syndrome X): an expanded definition.

Annu Rev Med 1993,44:121-31.

47. McCuskey RS, Ito Y, Robertson GR, McCuskey MK, Perry M, Farrell GC.

Hepatic microvascular dysfunction during evolution of dietary steatohepatitis in mice.

Hepatology 2004,40:386-93.

48. Li Z, Yang S, Lin H, Huang J, Watkins PA, Moser AB, Desimone C, Song XY, Diehl AM.

Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease.

Hepatology 2003,37:343-50.

49. Yin M, Wheeler MD, Kono H, Bradford BU, Gallucci RM, Luster MI, Thurman RG.

Essential role of tumor necrosis factor alpha in alcohol-induced liver injury in mice.

Gastroenterology 1999,117:942-52.

50. Villanova N, Moscatiello S, Ramilli S, Bugianesi E, Magalotti D, Vanni E, Zoli M, Marchesini G.

Endothelial dysfunction and cardiovascular risk profile in nonalcoholic fatty liver disease.

Hepatology 2005,42:473-80.

51. Jepsen P, Vilstrup H, Mellemkjaer L, Thulstrup AM, Olsen JH, Baron JA, Sorensen HT.

Prognosis of patients with a diagnosis of fatty liver--a registry-based cohort study.

Hepatogastroenterology 2003,50:2101-4.

52. Volzke H, Robinson DM, Kleine V, Deutscher R, Hoffmann W, Ludemann J, Schminke U, Kessler C, John U.

Hepatic steatosis is associated with an increased risk of carotid atherosclerosis.

World J Gastroenterol 2005,11:1848-53.

53. Alessi MC, Lijnen HR, Bastelica D, Juhan-Vague I.

Adipose tissue and atherothrombosis.

Pathophysiol Haemost Thromb 2003,33:290-7.

*T*ABELLE

Tabella 1. Caratteristiche antropometriche, metaboliche e prevalenza delle malattie cardiovascolari e della steatosi epatica nella popolazione studiata (n=254)

	<i>Media</i>	<i>Range</i>
Età (anni)	62.0	53.0 - 78.9
Indice di massa corporea (kg/m ²)	27.1	19.3 - 36.1
Circonferenza vita (cm)	97.4	65.0 - 118.0
Colesterolemia (mg/dL)	224.3	104.0 - 391.0
HDL-Colesterolo (mg/dL)	47.8	22.0 - 96.0
LDL-Colesterolo (mg/dL)	149.4	22.0 - 299.0
Trigliceridemia (mg/dL) ^δ	120.1	26.0 - 588.0
Pressione arteriosa sistolica (mmHg)	139.0	107.0 - 192.0
Pressione arteriosa diastolica (mmHg)	88.1	62.0 - 121.0
HOMA Index ^δ	1.89	0.31 - 19.3
PAI-1 (ng /mL) ^δ	19.8	1.0 - 76.5
Aspartato aminotransferasi ^δ (U/L)	21.4	12.0 - 57.0
Alanina transaminasi ^δ (U/L)	22.2	7.0 - 104.0
Gamma-glutamil transpeptidasi ^δ (U/L)	26.6	8.0 - 132.0
Acido urico (mg/dL)	5.08	2.0 - 9.9
Grasso preperitoneale ° (mm)	15.3	1.5 - 31.0
Grasso peritoneale° (mm)	60.9	4.6 - 120.0
Consumo alcool (g/die)*	34.9	1.31 - 216.0

^δ *media geometrica*; ° *valutazione ecografica*; * *n=245 (9 astemi)*

	<i>n (%)</i>
Obesità	42 (16.5)
Sindrome metabolica	84 (33.1)
Diabete	38 (15.0)
<i>Terapia ipoglicemizzante in corso</i>	22 (8.7)
Ipertensione arteriosa	170 (66.9)
<i>Terapia antiipertensiva in corso</i>	93 (36.6)
Grado di steatosi epatica	
<i>Assente</i>	72 (28.3)
<i>Lieve</i>	90 (35.4)
<i>Moderata-severa</i>	92 (36.2)

Tabella 2. Medie (I.C. 95%) delle variabili selezionate e dei fattori di rischio cardiovascolari in funzione del grado ecografico di steatosi epatica (n=254).

	Grado ecografico di steatosi epatica			p
	assente n=72	lieve n=90	moderato-severo n=92	
Età (anni)	60.7 (59.5 - 61.9)	62.0 (60.8 - 63.1)	63.0 (62.0 - 64.1)	0.016
Indice di massa corporea (kg/m ²)	24.9 (24.3 - 25.5)	26.9 (26.4 - 27.5)	29.1 (28.4 - 29.7)	<0.001
Circonferenza vita (cm)	91.5 (89.9 - 93.1)	97.2 (95.9 - 98.4)	102.2 (100.4 - 104.0)	<0.001
Colesterolemia (mg/dL)	223.3 (213.1 - 233.5)	226.9 (218.6 - 235.1)	222.5 (214.4 - 230.6)	0.746
HDL-Colesterolo (mg/dL)	48.8 (45.7 - 51.9)	49.1 (46.3 - 51.9)	45.6 (43.3 - 47.9)	0.122
LDL- Colesterolo (mg/dL)	150.8 (141.9 - 159.7)	151.3 (143.7 - 158.9)	146.3 (138.5 - 154.2)	0.624
trigliceridemia (mg/dL) ^δ	105.0 (93.8 - 117.4)	117.1 (105.9 - 129.5)	136.7 (124.3 - 150.3)	0.002
Pressione arteriosa sistolica (mmHg)	135.5 (131.5 - 139.6)	139.5 (136.7 - 142.2)	141.4 (138.1 - 144.6)	0.052
Pressione arteriosa diastolica (mmHg)	86.7 (84.5 - 88.8)	88.5 (86.8 - 90.2)	88.9 (87.1 - 90.8)	0.227
HOMA Index ^δ	1.23 (1.07 - 1.43)	1.78 (1.56 - 2.03)	2.79 (2.43 - 3.19)	<0.001
PAI-1 (ng /mL) ^δ	14.2 (12.4 - 16.1)	20.7 (18.0 - 23.7)	24.6 (21.8 - 27.9)	<0.001
Aspartato aminotransferasi ^δ (U/L)	20.8 (19.6 - 22.0)	21.1 (20.0 - 22.3)	22.2 (21.2 - 23.3)	0.190
Alanina transaminasi ^δ (U/L)	18.9 (17.5 - 20.4)	22.2 (20.4 - 24.1)	25.1 (23.2 - 27.2)	<0.001
Gamma-glutamil transpeptidasi ^δ (U/L)	22.9 (20.5 - 25.6)	26.2 (23.9 - 28.7)	30.2 (27.2 - 33.7)	<0.001
Acido urico (mg/dL)	4.80 (4.57 - 5.04)	5.06 (4.85 - 5.27)	5.32 (5.09 - 5.56)	0.008
Grasso preperitoneale (mm)	13.1 (11.9 - 14.3)	15.5 (14.5 - 16.5)	16.9 (16.0 - 17.8)	<0.001
Grasso peritoneale (mm)	47.6 (43.9 - 51.3)	62.1 (58.2 - 65.9)	70.1 (66.4 - 73.8)	<0.001
Consumo alcool (g/die)*	29.7 (22.2 - 37.2)	36.2 (29.4 - 42.9)	37.6 (29.6 - 45.6)	0.319
<i>Media (IC 95%); ^δ media geometrica; *tra i 245 consumatori di alcolici, 68, 87, 90 erano rispettivamente nel gruppo con grado assente, lieve, moderato- severo di epatosteatosi.</i>				
Obesità	2 (4.8)	4.8 (19.0)	32 (76.2)	<0.001
Ipertensione arteriosa	38 (22.4)	58 (34.1)	74 (43.5)	<0.001
Sindrome metabolica	8 (9.5)	28 (33.4)	48 (57.1)	<0.001
Diabete mellito	6 (15.8)	9 (23.7)	23 (60.5)	0.003
<i>n (%)</i>				

Tabella 3. Livelli di PAI-1 e variabili analizzate: coefficienti di correlazione di Pearson (n=254)

	<i>PAI-1</i>		
	<i>Non aggiustato</i>	<i>Corretto per età</i>	<i>Corretto per età e trattamento[§]</i>
Età (anni)	-0.112	/	/
Indice di massa corporea (kg/m ²)	0.299**	0.318**	0.294**
Circonferenza vita (cm)	0.304**	0.333**	0.311**
Colesterolemia (mg/dL)	0.204**	0.205**	0.225**
HDL-Colesterolo (mg/dL)	-0.168*	-0.156*	-0.147*
LDL-Colesterolo (mg/dL)	0.140*	0.140*	0.163*
Trigliceridemia (mg/dL) ^δ	0.367**	0.361**	0.355**
PA sistolica (mmHg)	0.080	0.103	0.085
PA diastolica (mmHg)	0.044	0.035	0.041
HOMA Index ^δ	0.308**	0.314**	0.291**
Aspartato aminotransferasi ^δ (U/L)	0.053	0.042	0.054
Alanino transaminasi ^δ (U/L)	0.143*	0.124*	0.119
Gamma-glutamil transpeptidasi ^δ (U/L)	0.288**	0.268**	0.251**
Acido urico (mg/dL)	0.165*	0.178*	0.168*
Grasso preperitoneale [°] (mm)	0.150*	0.144*	0.136*
Grasso peritoneale [°] (mm)	0.291**	0.297**	0.284**

*p<0.05; ** p<0.001; [§]in trattamento con ipoglicemizzanti, antiipertensivi, e ipolipidemizzanti.

Tabella 4. Analisi di regressione lineare dei determinanti della sindrome metabolica^a e del grado di steatosi epatica sui livelli di PAI-1 circolanti (n=254)

Variabile dipendente: Lg PAI-1

	Corretti per età		Corretti per età e trattamento ^b	
	β (I.C. 95%)	P	β (I.C. 95%)	p
IMC	0.197 (0.124 - 0.270)	<0.001	0.188 (0.111 - 0.265)	<0.001
Circonf. vita	0.227 (0.147 - 0.307)	<0.001	0.219 (0.135 - 0.302)	<0.001
Grasso preperitoneale	0.098 (0.014 - 0.182)	0.022	0.092 (0.008 - 0.177)	0.032
Grasso peritoneale	0.188 (0.113 - 0.264)	<0.001	0.181 (0.104 - 0.257)	<0.001
Trigliceridemia	0.204 (0.130 - 0.278)	<0.001	0.200 (0.125 - 0.275)	<0.001
LDL-Colesterolo	0.090 (0.011 - 0.170)	0.026	0.107 (0.026 - 0.188)	0.010
HDL-Colesterolo	-0.101 (-1.81 - -0.021)	0.013	-0.095 (-0.176 - -0.015)	0.020
γ GT	0.168 (0.085 - 0.252)	<0.001	0.156 (0.069 - 0.242)	<0.001
Homa index	0.157 (0.081 - 0.234)	<0.001	0.155 (0.069 - 0.240)	<0.001
Acido urico	0.114 (0.036 - 0.193)	0.004	0.109 (0.029 - 0.190)	0.008
PA Sistolica	0.107 (0.022 - 0.193)	0.014	0.097 (0.010 - 0.185)	0.029
Steatosi epatica				
Lieve rispetto ad assente	0.406 (0.219 - 0.594)	<0.001	0.408 (0.219 - 0.598)	<0.001
Moderato-severo rispetto ad assente	0.606 (0.417 - 0.795)	<0.001	0.599 (0.400 - 0.799)	<0.001

^aLe variabili sono state espresse come Z score. ^bTrattamento antiipertensivo, ipolipidizzante e ipoglicemizzante

Tabella 5. Modelli di analisi lineare generalizzata comprendenti come variabili indipendenti i principali determinanti dei livelli di PAI-1 (n=254)

Variabile dipendente: PAI-1

	Corretto per età		Corretto per età e trattamento			Corretto per età		Corretto per età e trattamento	
	F	p	F	p		F	P	F	p
Circonf. vita	31.3	<0.001	26.3	<0.001	Grasso peritoneale	24.2	<0.001	21.6	<0.001
R ² corretto	0.12		0.11		R ² corretto	0.09		0.09	

Variabile dipendente: PAI-1

	Corretto per età		Corretto per età e trattamento			Corretto per età		Corretto per età e trattamento	
	F	p	F	p		F	P	F	p
Circonf. vita	13.9	<0.001	13.7	<0.001	Grasso peritoneale	10.9	<0.001	10.5	0.001
Trigliceridi	15.3	<0.001	15.4	<0.001	Trigliceridi	16.9	<0.001	16.7	<0.001
γGT	3.1	0.078	3.1	0.078	γGT	2.4	0.120	2.3	0.130
Homa index	1.3	0.263	1.5	0.221	Homa index	1.9	0.165	1.5	0.216
Acido urico	1.6	0.209	1.2	0.274	Acido urico	2.2	0.135	1.8	0.185
R ² corretto	0.20		0.19		R ² corretto	0.19		0.18	

Variabile dipendente: PAI-1

	Corretto per età		Corretto per età e trattamento			Corretto per età		Corretto per età e trattamento	
	F	p	F	p		F	P	F	p
Circonf. vita	5.4	0.021	5.2	0.023	Grasso peritoneale	3.50	0.063	3.50	0.063
Trigliceridi	14.3	<0.001	14.5	<0.001	Trigliceridi	15.1	<0.001	15.1	<0.001
γGT	1.9	0.174	1.9	0.165	γGT	1.5	0.228	1.5	0.228
Homa index	0.7	0.406	0.8	0.360	Homa index	1.0	0.314	1.0	0.314
Acido urico	1.0	0.310	0.7	0.401	Acido urico	1.4	0.244	1.4	0.244
Epatosteatosi	5.5	0.005	5.5	0.005	Epatosteatosi	6.0	0.003	6.0	0.003
R ² corretto	0.231		0.222		R ² corretto	0.225		0.216	

Tabella 6. Livelli di PAI-1 circolante in funzione del grado di steatosi epatica dopo correzione per le principali covariate (n=254)

	Grado di steatosi epatica		
	assente n=72	lieve n=90	moderato-severo n=92
Livelli di PAI-1	15.9 (13.7 - 18.4)	21.0 (18.7 - 23.7)	22.1 (19.4 - 25.1)
p for trend	0.004		

Media (I.C. 95%); corretti per circonf. vita, trigliceridi, γ GT, HOMA index, acido urico ed età.

	Grado di steatosi epatica		
	assente n=72	lieve n=90	moderato-severo n=92
Livelli di PAI-1	14.9 (12.1 - 18.3)	19.7 (16.3 - 23.9)	21.0 (17.5 - 25.0)
p for trend	0.003		

Media (I.C. 95%); corretti per circonferenza vita, trigliceridi, γ GT, HOMA index, acido urico, età e trattamento antiipertensivo, ipolipidemico ed ipoglicemizzante.

Tabella 7. Analisi di regressione lineare multipla: Interazione tra steatosi epatica e determinanti della sindrome metabolica sui livelli circolanti di PAI-1 corretti per età (n=254)

Interazione tra	Steatosi epatica		Circonferenza vita		Trigliceridi	
	F	p	F	p	F	p
Circonferenza vita	0.541	0.583	/	/	1.441	0.231
Grasso peritoneale	0.188	0.829	1.208	0.273	4.843	0.029
Trigliceridi	0.366	0.694	1.441	0.231	/	/