

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Nealkoholická jaterní steatóza

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Jindřich Suchý**
Osobní číslo: **C17105**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Téma práce: **Nealkoholická jaterní steatóza**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Seznamte se s literárními údaji o vzniku a fyziologických projevech nealkoholické jaterní steatózy.
2. Diskutujte vliv změn v krevních koncentracích glukózy, lipidů, ketolátek a dalších krevních analytů na vznik a progresi nealkoholické jaterní steatózy.
3. Popište metabolické poruchy charakteristické pro tohoto onemocnění.
4. Popište dostupnou analytickou, diagnostickou a farmakologickou metodiku pro predikci, diagnostiku a léčbu nealkoholické jaterní steatózy. Popište jejich experimentální dostupnost a specifikujte jejich účinnost a přesnost.
5. Informace přehledně zpracujte, použijte obrázky, schémata a grafy. Ze získaných literárních údajů vyvoďte závěry o vzniku a vývoji nealkoholické jaterní steatózy, příčinách její progresi a možnostech včasné diagnostiky tohoto onemocnění a doprovodných zdravotních komplikací.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

1. Lebeau C. et al.: Endoplasmic reticulum stress signalling and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease, *Journal of Hepatology* 2018, 69, 927-947.
2. Samuel V. T. et al.: Nonalcoholic fatty liver disease as a nexus of metabolic and hepatic diseases, *Cell Metabolism* 2018, 27, 22-41.
3. Samala N. et al.: Molecular mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease: Potential role for 12-lipoxygenase, *Journal of Diabetes and Its Complications* 2017, 31, 1630-1637.
4. Sunny N. et al.: Mitochondrial adaptation in nonalcoholic fatty liver disease: Novel mechanism and treatment strategies, *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2017, 28, 250-260.
5. Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.**
Katedra biologických a biochemických věd

Konzultant bakalářské práce: **Ing. Martina Špryncová**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2019**
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2020**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Chrasti dne 20. 6. 2020

Jindřich Suchý

Poděkování

Rád bych poděkoval vedoucímu své práce prof. Ing. Alexandru Čeganovi, CSc. za vstřícnost, cenné rady, připomínky a věnovaný čas během vypracovávání mé práce.

Anotace

Tato práce se zabývá nealkoholickou jaterní steatózou. V první části jsou popsány příčiny a mechanismy vzniku nealkoholické steatózy jater. Dále se práce zabývá spojením mezi nealkoholickou jaterní steatózou a dalšími metabolickými poruchami a mechanismy vzniku onemocnění, která vznikají jako následek nealkoholické steatózy. V dalších částech jsou uvedeny možnosti diagnostiky nealkoholické jaterní steatózy a možné způsoby její léčby.

Klíčová slova

Nealkoholická steatóza, steatohepatitida, fibróza, játra, lipidy

Title

Nonalcoholic liver steatosis

Annotation

This thesis deals with nonalcoholic liver steatosis. In the first part are described causes and mechanisms of pathogenesis of nonalcoholic liver steatosis. Next, the thesis is focused on connection between nonalcoholic liver steatosis and other metabolic disorders and mechanisms of pathogenesis of diseases caused by nonalcoholic steatosis. In other parts there are described possibilities of diagnosis and treatment of nonalcoholic liver steatosis.

Keywords

Nonalcoholic steatosis, steatohepatitis, fibrosis, liver, lipids

Obsah

1	Úvod	13
2	Vznik, příčiny	14
2.1	Nadměrný příjem energie, obezita	14
2.2	Inzulinová rezistence	16
2.3	Poškození střevní mikrobioty	16
2.4	Genetika	17
2.5	Železo	18
3	Související onemocnění	19
3.1	Diabetes mellitus 2. typu	19
3.2	Dyslipidemie	20
3.3	Metabolický syndrom	20
4	Následky	21
4.1	Nealkoholická steatohepatitida	21
4.2	Fibróza, cirhóza	24
4.3	Hepatocelulární karcinom	25
4.4	Kardiovaskulární onemocnění	26
4.5	Chronické onemocnění ledvin	26
5	Diagnostika	27
5.1	Biochemie	27
5.2	Panely biomarkerů	29
5.3	Zobrazovací techniky	30
5.4	Biopsie jater	31
5.5	NAFLD při dalších onemocněních	31
5.6	NAFLD a alkoholové poškození jater (ALD)	32
6	Léčba	32
6.1	Úprava životosprávy	32

6.2	Léky.....	33
6.3	Bariatrická chirurgie.....	34
7	Závěr.....	35
8	Zdroje	36

Seznam ilustrací a tabulek

Obrázek 1 – příjem a výdej tuků játry	14
Obrázek 2 – vznik NAFLD.....	18
Obrázek 3 – následky NAFLD	21
Obrázek 4 – vznik NASH	23
Obrázek 5 – vznik fibrózy při NASH	25
Obrázek 6 – histologický nález při steatóze (1), steatohepatidě (2, 3) a fibróze (4)	31
Tabulka 1 – referenční hodnoty markerů NAFLD, NASH a fibrózy	28
Tabulka 2 – rozdíly ve výsledcích použití CK – 18 pro určení NASH v různých studiích.....	28
Tabulka 3 – stanovení NAFLD, NASH a fibrózy pomocí krevních lipidů v různých studiích	29

Seznam zkratek

ALP – alkalická fosfatáza

ALT – alaninaminotransferáza

AMPK – 5'-AMP-actived protein kinase

Apo – apolipoprotein

APRI – AST-to-platelet ratio index

ARF – ADP-ribosylation factor

AST – aspartátaminotransferáza

ATGL – adipocyte triglyceride lipase

ATP – adenosintrifosfát

BMI – body mass index

CCL – chemokine (C-C motif) ligand

CCR – C-C motif chemokine receptor

CHOP – CCAAT/enhancer binding homologous protein

ChREBP – carbohydrate response element binding protein

CoA – koenzym A

DAMP – damage-associated molecular pattern

ER – endoplazmatické retikulum

FABP – fatty acid binding protein

FATP – fatty acid transport protein

FGF – fibroblast growth factor

FXR – farnesoid X receptor

GCKR – glukokinase regulatory gene

GLP – glukagon-like peptide

GMT – gamma glutamyltransferáza

HDL – lipoproteiny s vysokou hustotou (high density lipoprotein)

IGF – insulin-like growth factor

IKK β - inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells

IL – interleukin

IRE – inositol requiring enzyme

IRS – insulin receptor substrate

JAK/STAT – Janus kinases/signal transducer and activator of transcription

JNK – c-Jun NH2-terminal kinase

LDL – lipoproteiny o nízké hustotě (low density lipoprotein)

MAPK – mitogen-activate protein kinase

MCV – střední objem erytrocytu

MMP – matrix metalloproteinease

NAFLD – nealkoholická steatóza jater (nonalcoholic fatty liver disease)

NAS – NAFLD activity score

NASH – nealkoholická steatohepatitida

NF – nuclear factor

NPV – negativní predikční hodnota

PDFF – proton density fat fraction

PDGF – platelet derived growth factor

PERK – protein kinase RNA-activated (PKR)-like endoplasmic reticulum kinase

PIIINP – procollagen type III N-terminal peptide

PI3K – fosfokatidylinositol 3-kinase

PKC – protein kináza C

PNPLA – papatin-like phospholipase domain-containing protein

PPAR – peroxisome proliferator-activated nuclear receptor

PPV – pozitivní predikční hodnota

Pro – C3 – C-terminal cleavage site of N-terminal type III collagen propeptide

ROS – reaktivní sloučeniny kyslíku (reactive oxygen species)

SAF – steatosis, activity, fibrosis

SCFA – mastné kyseliny s krátkým řetězcem (short chain fatty acid)

SERCA – sarcoendoplasmic reticulum calcium ATPase

SREBP – stearyl regulatory element binding protein

TGF – transforming growth factor

TGR – G protein coupled bile acid receptor

TIMP – tissue inhibitor of metalloproteinase

TLR – toll-like receptor

TM6SF2 – transmembrane 6 superfamily member 2

TNF – tumor nekrotizující faktor

VDAC – voltage dependent anion channel

VEGF – vascular endothelial growth factor

VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě (very low density lipoprotein)

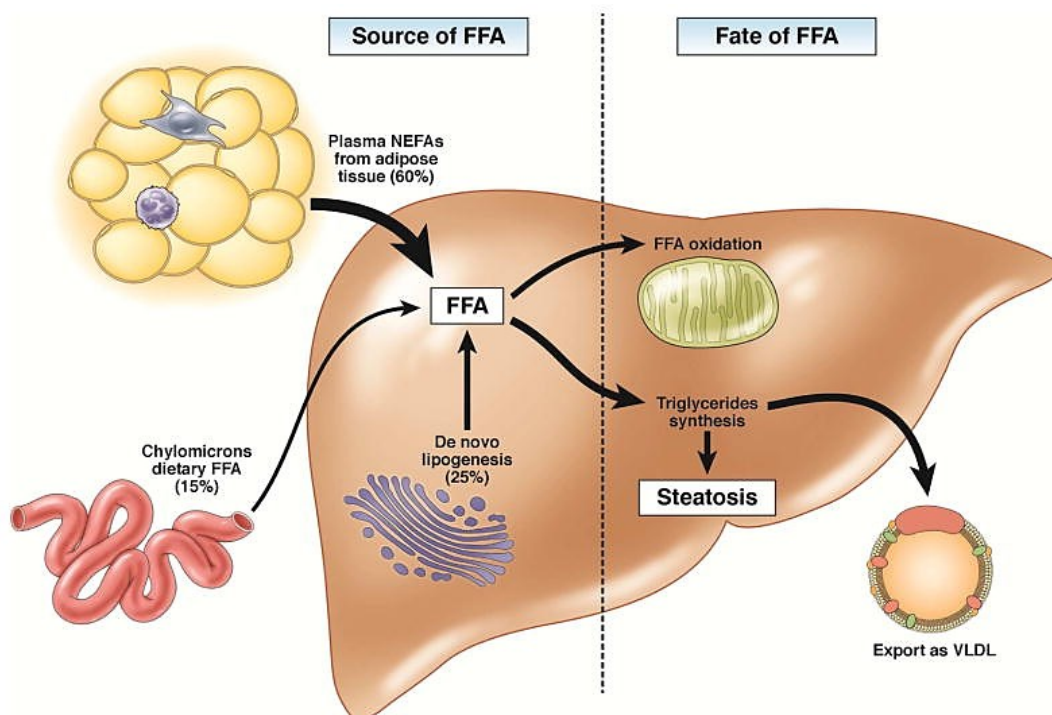
1 Úvod

Nealkoholická jaterní steatóza (NAFLD) je onemocnění, při kterém dochází k ukládání tuků v játrech bez nadměrného příjmu alkoholu. V dnešní době dochází k nárůstu výskytu NAFLD, která je hlavní příčinou onemocnění jater ve vyspělých státech. V těchto zemích je NAFLD postiženo okolo 30 % populace. Zvýšená incidence NAFLD je spojená s nárůstem množství metabolických poruch, jako je obezita, diabetes mellitus 2. typu a metabolický syndrom. U většiny osob je přítomna pouze prostá steatóza, která je většinou benigní a asymptomatická. U části lidí vede ale NAFLD ke vzniku nealkoholické steatohepatitidy a jaterní fibrózy a cirhózy. Přítomnost NAFLD také zvyšuje riziko vzniku hepatocelulárního karcinomu. Nealkoholická jaterní steatóza navíc podporuje vznik kardiovaskulárních chorob a onemocnění ledvin. [115, 116, 55]

2 Vznik, příčiny

2.1 Nadměrný příjem energie, obezita

Nealkoholická jaterní steatóza vzniká v důsledku většího příjmu tuků játry, než je jejich výdej. Jsou tři hlavní zdroje lipidů pro játra – tuky z potravy (do jater se dostávají ve zbytcích chylomikronů), volné mastné kyseliny vzniklé lipolýzou v tukové tkáni a mastné kyseliny syntetizované v játrech (hlavně ze sacharidů). Játra se tuků zbavují dvěma cestami – jejich štěpením β – oxidací a jejich výdejem do krve ve VLDL částicích.



Obrázek 1 – příjem a výdej tuků játry

(FFA – volné mastné kyseliny, NEFA – neesterifikované mastné kyseliny) [18]

Nealkoholická steatóza se vyskytuje u většiny obézních osob (65–85 %) a četnost jejího výskytu roste s mírou obezity (vyjádřenou BMI). Hlavním mechanismem, který se podílí na vzniku steatózy je porucha funkce tukové tkáně. NAFLD je spojena s nárůstem množství viscerálního tuku, který se zřejmě podílí na jejím vzniku. Viscerální tuk je zdrojem velkého množství adipokinů a má velký podíl na jejich nerovnováze. Podle některých výzkumů ale nárůst množství viscerálního tuku není příčinou steatózy, ale vzniká souběžně s ní.

Růst množství tukové tkáně a velikosti adipocytů způsobuje poruchy její funkce, ty vedou k přesunu lipidů do jater. Vstupují do ní imunitní buňky (makrofágy), produkují cytokiny, mění se hladina adipokinů. Tvorba IL – 6 a TNF α snižuje množství adiponektinu – ten působí proti steatóze, zvyšuje v játrech β – oxidaci mastných kyselin, snižuje jejich syntézu, zvyšuje citlivost k inzulinu a jeho sekreci, snižuje produkci glukózy játry. Dalším adipokinem je leptin, ten snižuje příjem energie, syntézu glukózy a lipidů v játrech, zvyšuje jejich oxidaci a výdej energie. U NAFLD vzniká rezistence jater k leptinu, dochází k nárůstu jeho hladiny, to má prozánětlivé účinky. Na vzniku nealkoholické steatózy se podle některých studií podílí také adipokin resistin – jeho hladina roste při inzulinové rezistenci a NAFLD. Jiné výzkumy ale roli resistinu při vzniku NAFLD neprokázaly. Resistin se také může v játrech podílet na vzniku zánětu a fibrózy. Nárůst množství tukové tkáně také vede k inzulinové rezistenci, která se rovněž podílí na vzniku NAFLD. Dále dochází k nárůstu množství CD36 (membránový protein přenášející mastné kyseliny) v játrech a kosterní svalovině a k poklesu jeho množství v tukové tkáni, to vede k nárůstu příjmu mastných kyselin játry. Během obezity se na zvýšeném ukládání tuku v játrech podílí také zvýšené množství FATP a FABP (membránové proteiny podílející se na přenosu mastných kyselin z krve do hepatocytů). Nárůst množství malonyl – CoA v játrech při zvýšené syntéze mastných kyselin rovněž inhibuje β – oxidaci – malonyl – CoA inhibuje CPT1 (enzym přeměňující acyl – CoA na acylkarnitin). [1, 2, 3, 19, 21, 22, 25, 37, 38]

Nealkoholická jaterní steatóza se ale vyskytuje i u neobézních osob. Jedním z důvodů je změna rozložení tuku v těle (neprojeví se na hodnotě BMI), kdy dochází k nárůstu množství viscerálního tuku. Další možností je inzulinová rezistence, která se u neobézních osob s NAFLD objevuje častěji než u zdravých osob, a nevhodné složení stravy (nadbytek fruktózy). I u neobézních osob se steatózou dochází ke změně hladin adipokinů (zřejmě kvůli nárůstu viscerálního tuku). NAFLD může vzniknout také v důsledku působení genetických faktorů a vrozených chorob jako je např. cystická fibróza, Wilsonova choroba a lipodystrofie. [14, 15]

Nadměrný příjem lipidů potravou vede k jejich většímu přísunu do jater, a způsobuje změny ve složení a nárůst množství mikroorganismů ve střevě, který se podílí na vzniku steatózy a steatohepatitidy. Význam má také fruktóza a glukóza. Fruktóza je zpracovávána především játry a její štěpení není regulováno zpětnou vazbou, vzniká velké množství substrátu pro syntézu lipidů a glukoneogenezi (pyruvát, acetyl – CoA). Glukóza a fruktóza také aktivují ChREBP (transkripční faktor), to vede k větší syntéze lipidů. Zvýšení hladiny glukózy v krvi vede k vyloučení většího množství inzulínu, ten aktivuje transkripční faktor SREPB1c který zvyšuje syntézu lipidů. Faktor SREPB1c je ale aktivován rovněž působení fruktózy a aminokyselin. [4, 19]

2.2 Inzulinová rezistence

Další příčinou zvýšeného přísunu mastných kyselin a substrátu pro jejich syntézu do jater je inzulinová rezistence v kosterní svalovině a tukové tkáni. Snížení citlivosti tukové tkáně k inzulínu vede k menší inhibici činnosti hormon senzitivní lipázy, dochází k většímu uvolňování mastných kyselin do krve. Nárůst koncentrace inzulínu v krvi inhibuje lipoproteinovou lipázu, dochází k menšímu odbourávání triacylglycerolů z chylomikronů a k jejich většímu příjmu játry. Kosterní svalstvo rezistentní k inzulínu nedostatečně využívá glukózu, která je namísto syntézy glykogenu ve svalech využita játry k syntéze lipidů. Zvýšená hladina glukózy v krvi navíc aktivuje ChREBP. Nárůst koncentrace inzulínu v krvi také zvyšuje aktivitu SREPB1c.

Inzulinová rezistence se objevuje i v samotných játrech, kde zvyšuje glukoneogenezi a glykogenolýzu. Inzulinová rezistence v játrech by měla teoreticky vést k poklesu syntézy mastných kyselin kvůli snížení aktivity SREPB1c, u NAFLD k tomu ale nedochází, tento jev se označuje jako selektivní inzulinová rezistence. Jedním z možných vysvětlení je, že k poklesu aktivity SREPB1c zde dochází, ale syntéza mastných kyselin je udržována mechanismy nezávislými na inzulínu (aktivace SREPB1c a ChREBP glukózou a fruktózou). Hlavní přísun tuků do jater navíc nepochází ze syntézy mastných kyselin v játrech, ale z jejich přísunu z tukové tkáně. [4, 9, 10, 19, 20, 23]

2.3 Poškození střevní mikrobioty

Na vzniku NAFLD se podílí také změny skladby a zvýšení množství mikroorganismů ve střevě. Tyto změny způsobuje nadměrná konzumace sacharidů a lipidů, roste množství Gram-negativních (Bacteroidetes) a klesá množství Gram-positivních (Firmicutes) bakterií. Nárůst celkového množství bakterií vede k většímu vstřebávání živin z potravy (bakterie štěpí

nestravitelné polysacharidy na monosacharidy), to může vést k nárůstu tělesné hmotnosti a obezitě. Střevní mikrobiota rovněž zvyšuje vstřebávání monosacharidů, ty následně slouží jako substrát pro syntézu lipidů. Dále dochází k porušení těsných spojů mezi buňkami střevní sliznice a zvýšení její permeability, do jater se dostávají bakterie a jejich toxiny a podílí se v nich na vzniku zánětu.

Střevní bakterie přeměňují cholin z potravy na dimethylamin a trimethylamin podporující vznik zánětu, nedostatek cholinu podporuje steatózu (cholin je má význam ve tvorbě VLDL částic a podporuje výdej lipidů játry). Dochází ke zvýšení množství a změně skladby žlučových kyselin. Žlučové kyseliny ovlivňují vznik NAFLD působením na receptory FXR a TGR5. FXR v játrech podporuje syntézu glykogenu, snižuje glukoneogenezi, působí proti zánětu. Žlučové kyseliny se váží na FXR, některé z nich ho aktivují, jiné inhibují, změna skladby střevní mikrobioty vede k nárůstu podílu žlučových kyselin inhibujících FXR. Dále dochází ke snížení aktivity TGR5, který má vliv na metabolismus inzulinu (pomocí aktivace GLP – 1) a působí proti steatóze. Bakterie metabolizují polysacharidy a produkují mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA) (kyselina octová, propionová, máselná), ty podporují steatózu – acetát slouží jako substrát pro syntézu mastných kyselin, propionát pro glukoneogenezi. Některé bakterie (např. *Escherichia coli*) syntetizují ethanol, který je v játrech metabolizován na acetaldehyd a následně na acetát ze kterého vznikají mastné kyseliny, acetaldehyd podporuje oxidační stres a vznik zánětu. [11, 12, 13, 24]

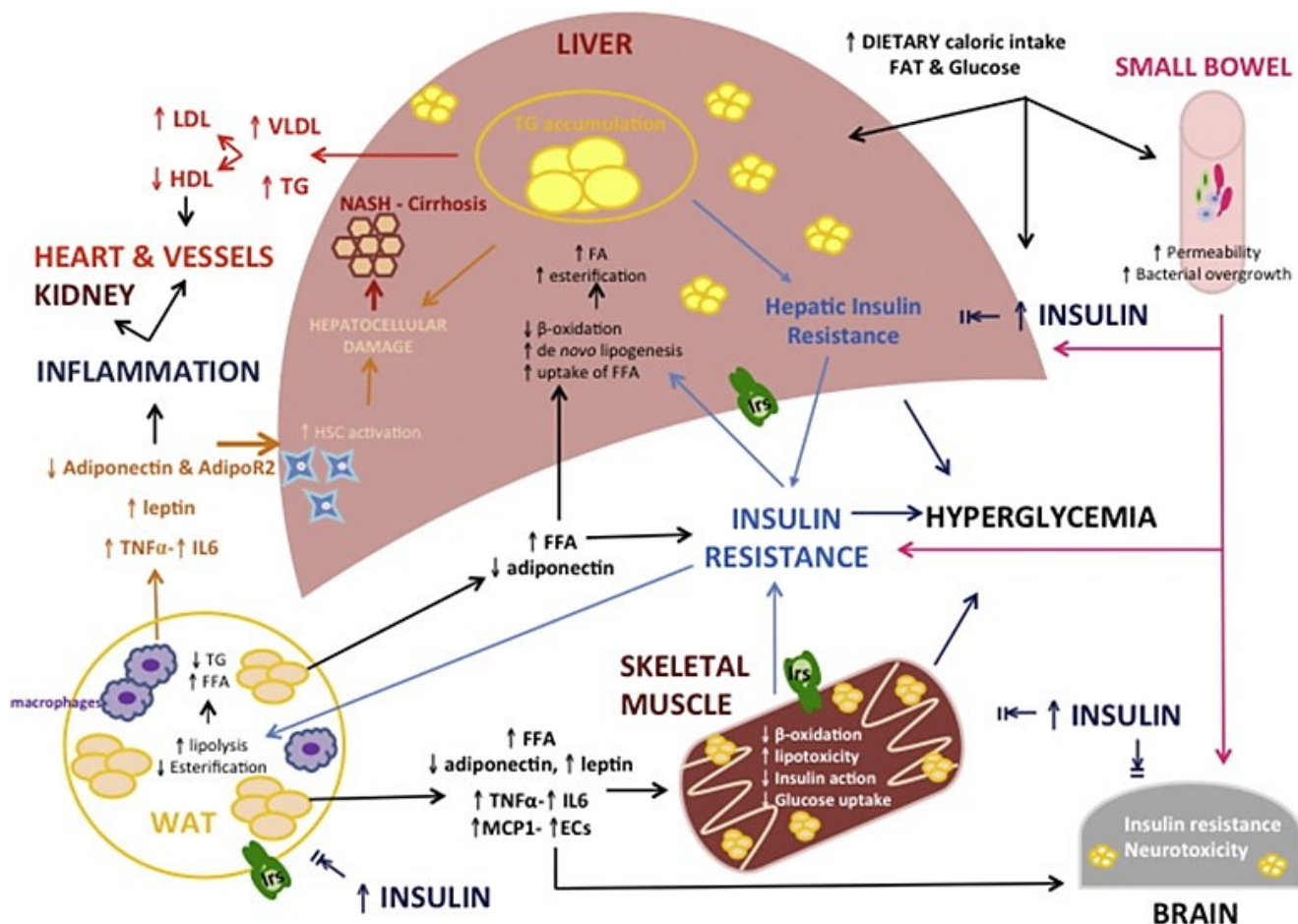
2.4 Genetika

Na vzniku steatózy se podílí také genetické faktory. Šanci na vznik steatózy zvyšuje přítomnost určitých variant některých genů. Patří mezi ně například gen pro apolipoprotein C3 – dochází k menšímu tlumení produkce ApoC3 inzulinem, nárůstu koncentrace ApoC3 v plazmě a hypetriacylglycerolemii. Zvýšené množství ApoC3 inhibuje lipoproteinovou lipázu, z chylomikronů je během cirkulace odbouráno méně triacylglycerolů, které se více dostávají do jater. Dalším genem podílejícím se na vzniku NAFLD je gen pro PNPLA3 (adiponutrin, membránový protein zasahující do metabolismu lipidů), jeho prostateotická varianta je rezistentní vůči odbourávání, hromadí se na povrchu kapek lipidů v játrech a brání jejich odbourávání. Význam mají dále geny pro jaderné receptory PPAR α (zvyšuje expresi genů podporujících β – oxidaci) a PPAR γ (zvyšuje příjem mastných kyselin tukovou tkání, citlivost k inzulinu), porucha jejich funkce se podílí na akumulaci tuků v játrech. Vznik NAFLD podporuje také porucha funkce TM6SF2 – dochází k menší sekreci triacylglycerolů ve VLDL částicích, a přítomnost určité varianty genu pro GSKR, která vede k tomu, že játra

přijímají více glukózy, která poté slouží jako substrát pro syntézu mastných kyselin. Porucha ve funkci ATGL (PNPLA2, lipáza vyskytující se v okolí kapek lipidů v tukové tkáni, játrech a dalších tkáních) vede k poklesu β – oxidace a větší akumulaci lipidů v játrech. [5, 6, 7, 8]

2.5 Železo

Dalším faktorem podporujícím vznik nealkoholické steatózy jater je nadbytek železa. U přibližně 30 % osob s NAFLD se vyskytuje zvýšená hladina ferritinu. Nárůst množství železa v tkáních v nich způsobuje inzulinovou rezistenci, k tomu vedoucím mechanismem je zřejmě oxidační stres, který vede k zánětu a vzniku inzulinové rezistence. Nadbytek železa v tukové tkáni také snižuje produkci adiponektinu a leptinu, které působí proti steatóze. Zvýšené množství železa v játrech způsobuje oxidační stres, ten vede ke vzniku zánětu. [16, 17]



Obrázek 2 – vznik NAFLD

(EC – endocannabinoid, FA – mastné kyseliny, FFA – volné mastné kyseliny, HSC – hvězdicové buňky, MCP – monocyte chemoattractant protein, TG – triacylglyceroly, WAT – bílá tuková tkáň) [1]

3 Související onemocnění

3.1 Diabetes mellitus 2. typu

Nealkoholická steatóza jater je úzce spojená s inzulinovou rezistencí a diabetem 2. typu. Inzulinová rezistence není pouze příčinou NAFLD, ale je jí také vyvolávána. Jednou z hlavních příčin steatózy je obezita, která rovněž vyvolává periferní inzulinovou rezistenci. Nárůst množství lipidů v tukové tkáni a ve svalech vede ke zvýšení množství meziproductů jejich metabolismu – diacylglycerolů a ceramidů, ty snižují citlivost tkáně k inzulinu. Mechanismem účinku diacylglycerolů je aktivace protein kinázy C (PKC) (ta fosforyluje IRS – 1, to vede k menšímu účinku inzulinu), ceramidy narušují funkci AKT (ten se podílí na přenosu signálu z aktivace inzulinového receptoru dále do buňky). Ceramidy navíc aktivují TNF α . Dalším mechanismem vedoucím k inzulinové rezistenci je sterilní zánět v tukové tkáni. Zvýšené množství tuku v tukové tkáni vede k aktivaci JNK a NF – κ B, ty fosforylují IRS – 1, to snižuje citlivost buněk k inzulinu. JNK a NF – κ B rovněž podporují produkci prozánětlivých cytokinů (TNF α , IL – 6, IL - 1 β). Aktivace JNK v játrech ale podle některých výzkumů působí naopak proti steatóze. Do tkáně také vstupují makrofágy, které produkují prozánětlivé cytokiny (TNF α , IL – 6), ty se podílejí na aktivaci JNK a NF – κ B. Produkované cytokiny se dostávají do krve a poté do jater, ve kterých aktivují NF – κ B, který vyvolává inzulinovou rezistenci. Zvýšená hladina cytokinů navíc snižuje tvorbu adiponektinu, který zvyšuje citlivost k inzulinu.

Zvýšený obsah tuku v játrech v nich rovněž vyvolává inzulinovou rezistenci. Uplatňují se zde podobné mechanismy jako v tukové tkáni a svalech. Diacylglyceroly v játrech vyvolávají snížení citlivosti k inzulinu hlavně aktivací PKC ϵ (izoforma PKC). Na vzniku inzulinové rezistence v játrech se zřejmě podílejí také ceramidy pomocí deaktivace AKT. Podle některých studií ale ceramidy inzulinovou rezistenci v játrech nevyvolávají. Akumulace tuku v játrech vyvolává stres endoplazmatického retikula, ten se podílí na vzniku inzulinové rezistence. Nadbytek lipidů vede k větší syntéze lipoproteinů, endoplazmatické retikulum musí zpracovat více bílkovin, je překročena jeho kapacita a bílkoviny se hromadí v jeho lumen. Stres endoplazmatického retikula vede nárůstu množství C/EBP, to vede ke zvýšení glukoneogeneze. Dochází také k aktivaci JNK. Stres endoplazmatického retikula může vést i k jeho poškození a apoptóze buňky.

Jaterní steatóza se podílí na vzniku diabetu 2. typu také pomocí působení na β – buňky pankreatu. Steatóza vede k větší produkci glukózy játry, zvýšená koncentrace glukózy v krvi způsobuje zvýšenou sekreci inzulínu β – buňkami, to vede k vyčerpání jejich kapacity a k poruše jejich funkce. NAFLD vede rovněž k nárůstu množství lipotoxických lipidů, ty také narušují funkci β – buněk. [26, 27, 28, 29, 30, 31, 23]

3.2 Dyslipidemie

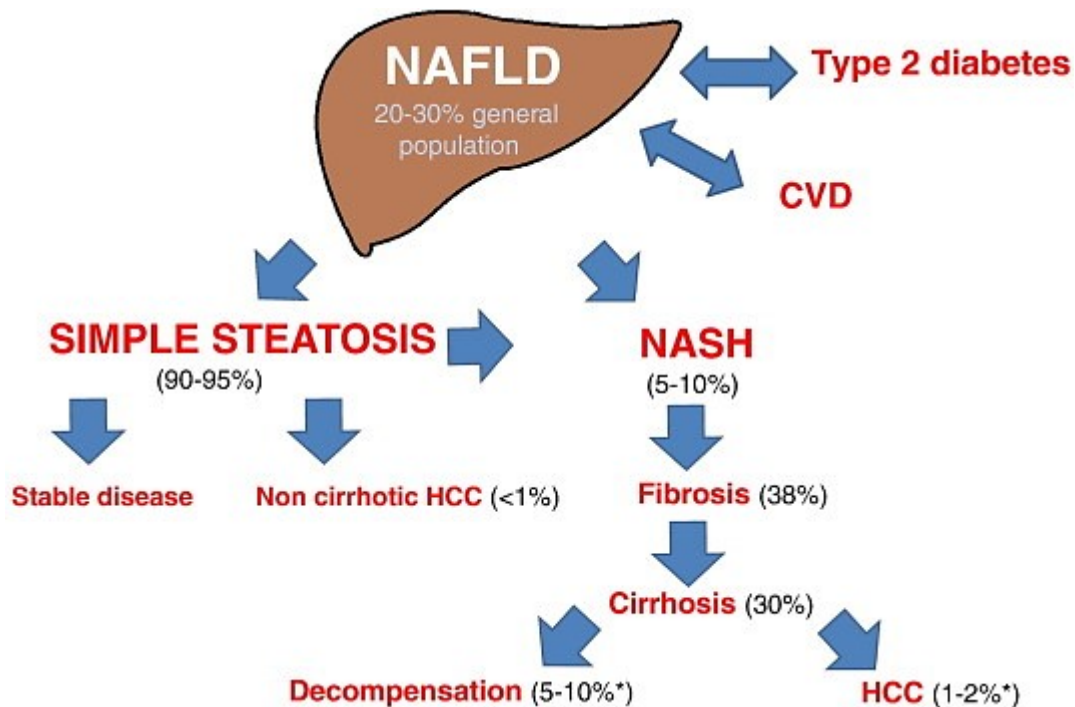
Společně s NAFLD se často vyskytuje aterosklerózu podporující forma dyslipidemie. Při ní dochází k nárůstu koncentrace VLDL částic a triacylglycerolů, a k poklesu koncentrace HDL cholesterolu v krvi. Navíc se mění složení LDL částic – roste podíl jejich formy více podporující aterosklerózu (small dense LDL). Dochází také ke změně ve složení HDL částic – klesá podíl frakce HDL₂, která má největší účinky proti ateroskleróze. Jaterní steatóza se podílí na vzniku této formy dyslipidemie. Zvýšený příjem triacylglycerolů játry vede k větší tvorbě VLDL částic, při NAFLD je navíc zvýšená aktivita CETP, to vede k většímu přenosu cholesterolu z HDL částic na VLDL výměnou za triacylglyceroly, to vede k poklesu koncentrace HDL cholesterolu a k nárůstu jeho množství ve VLDL částicích, které se následně mění na LDL – dochází k nárůstu LDL cholesterolu. NAFLD také zvyšuje činnost jaterní lipázy, ta štěpí LDL na small dense LDL. Dochází také k poklesu aktivity receptoru pro LDL, LDL částice zůstávají v krvi, roste jejich koncentrace. Určitá forma dyslipidemie je ale také příčinou steatózy. Zvýšená lipolýza v tukové tkáni vede k nárůstu koncentrace volných mastných kyselin v krvi a k jejich zvýšenému příjmu játry. [32, 33, 34]

3.3 Metabolický syndrom

Nealkoholická jaterní steatóza je často označována jako jaterní projev metabolického syndromu. Metabolický syndrom je stav, kdy dochází ke společnému výskytu několika poruch metabolismu – insulinové rezistence, hyperglykémie, viscerální obezity, hypertenze a dyslipidemie (pokles koncentrace HDL částic, nárůst koncentrace triacylglycerolů). Zvýšené ukládání tuku v játrech ale není pouze následkem metabolického syndromu, ale podílí se i na jeho vzniku. Steatóza jater podporuje vznik metabolického syndromu hlavně tím, že v nich vyvolává insulinovou rezistenci (vliv PCK ϵ). Ta v nich zvyšuje glukoneogenezi a glykogenolýzu, roste koncentrace glukózy v krvi. Metabolický syndrom se podílí také na vzniku a progresi NAFLD. Insulinová rezistence vede k nárůstu lipolýzy v tukové tkáni a k ukládání lipidů v játrech. [35, 36, 39]

4 Následky

Zvýšené ukládání triacylglycerolů v hepatocytech je samo o sobě benigní, ale mechanismy které k němu vedou zároveň způsobují vznik zánětu jater a jeho následků – jaterní fibrózy a cirhózy. NAFLD déle může vést ke vzniku hepatocelulárního karcinomu a některých mimojaterních chorob (kardiovaskulární choroby, onemocnění ledvin).



Obrázek 3 – následky NAFLD

(CVD – kardiovaskulární onemocnění, HCC – hepatocelulární karcinom) [115]

4.1 Nealkoholická steatohepatitida

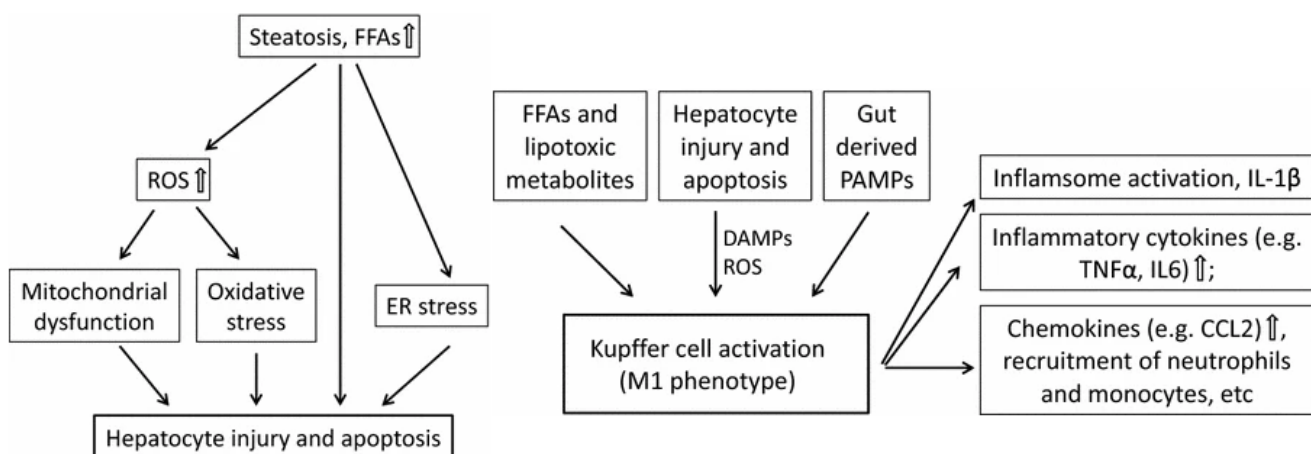
Jedním z mechanismů které se uplatňují při vzniku zánětu v játrech je vliv zvýšeného metabolismu lipidů. Velký vliv na vznik steatohepatitidy má nárůst množství lipotoxických lipidů – volných mastných kyselin, diacylglycerolů, ceramidů, acylkarnitinů, cholesterolu. Volný cholesterol tvoří krystaly v kapkách lipidů v hepatocytech, to má prozánětlivý účinek a může vést k zániku buňky. Akumulace lipidů v buňce vede k porušení funkce VDAC (iontový kanál v membráně mitochondrií), to vede ke smrti buňky. Zvýšené množství volných mastných kyselin vede k nárůstu tvorby reaktivních sloučenin kyslíku (ROS) během jejich β – oxidace a k oxidačnímu stresu. Kapacita mitochondrií nestačí ke zpracování všech mastných kyselin, dochází k nárůstu jejich oxidace v peroxisomech (β – oxidace) a mikrosomech (ω – oxidace), to vede k další produkci ROS. Vzniklý oxidační stres poškozuje mitochondrie, které

poté během β – oxidace produkují méně ATP a více ROS. Jedním z mechanismů je peroxidace lipidů vlivem ROS, peroxidované lipidy poté poškozují mitochondrie. Dalším faktorem porušujícím funkci mitochondrií je zvýšení permeability lysozomů. Při vzniku poškození mitochondrií se uplatňuje také palmitát – z něj vzniká lysofosfatidylcholin, ten fosforyluje substrát pro JNK v jejich membráně. Na činnost JNK působí rovněž cholesterol, který působením na mitochondrie vyvolává apoptózu. Poškozené mitochondrie spouští apoptózu také pomocí vypouštění cytochromu C. Vzniklé ROS se na zničení buňky podílí také pomocí poškozování DNA.

Dalším mechanismem, který se podílí na poškození hepatocytů je stres endoplazmatického retikula (ER). Stres endoplazmatického retikula vzniká kvůli hromadění lipidů v buňce. Endoplazmatické retikulum musí zpracovávat více proteinů (kvůli zvýšení syntézy lipoproteinů), to vede k porušení jeho funkce. Zvýšené množství ROS způsobuje poruchy ve funkci ER, poškozené endoplazmatické retikulum poté produkuje větší množství ROS. Na vzniku stresu endoplazmatického retikula se podílí také cholesterol, nárůst jeho množství vede k poruše ve funkci SERCA (membránový protein přenášející vápenaté ionty), to vede k přenosu vápenatých iontů ven z endoplazmatického retikula a k poruše jeho funkce. Stres ER aktivuje proteiny PERK a ARF – 6, ty aktivují CHOP, ten podporuje apoptózu buňky. Dále dochází k aktivaci IRE – 1, to zvyšuje aktivitu JNK, která se také podílí na apoptóze. Stres endoplazmatického retikula také zvyšuje činnost NF – κ B, to má prozánětlivé účinky.

Další cestou podílející se na vzniku zánětu v játrech je činnost imunitních buněk. Největší vliv má činnost Kupfferových buněk. Lipotoxické lipidy (volné mastné kyseliny, ceramidy, cholesterol) aktivují Kupfferovy buňky, ty poté produkují prozánětlivé cytokiny ($\text{TNF}\alpha$, IL – 6, IL – 1 β). Na aktivaci Kupfferových buněk se podílí také produkty peroxidace lipidů a molekuly pocházející z poškozených buněk (DAMP). Existují dvě skupiny Kupfferových buněk – M1 a M2. Buňky skupiny M1 mají prozánětlivé účinky, skupina M2 má protizánětlivé účinky, při nealkoholické steatohepatitidě dochází k nárůstu podílu M1 buněk. Aktivované Kupfferovy buňky následně aktivují další druhy imunitních buněk. Zvýšená produkce cytokinu CCL2 vede k přestupu makrofágů do jater. Makrofágy se v játrech podílí na vzniku zánětu sekrecí prozánětlivých cytokinů ($\text{TNF}\alpha$, IL – 6, IL – 1 β). Na vzniku steatohepatitidy se dále podílí neutrofilové – ty v játrech produkují myeloperoxidázu a elastázu, které poškozují hepatocyty.

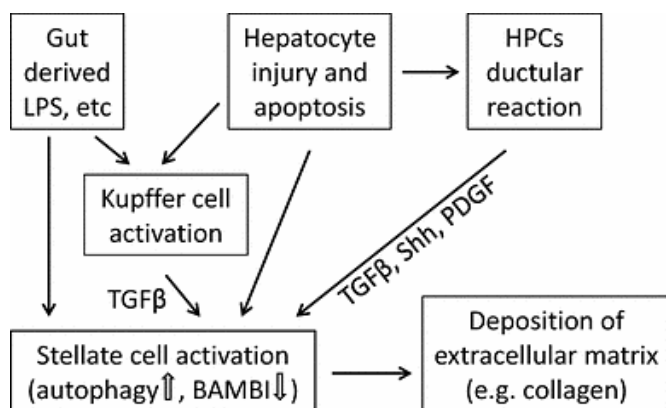
Na vznik nealkoholické steatohepatitidy má vliv také hladina adipokinů. Během NAFLD dochází k poklesu množství adiponektinu, který má protizánětlivé účinky. Dále dochází k nárůstu hladiny leptinu, ten má prozánětlivé účinky. Vznik zánětu v játrech podporuje zřejmě také nárůst množství resistinu. Dalším faktorem podporujícím vznik zánětu v játrech je zvýšené množství železa. Železo v játrech zvyšuje oxidační stres pomocí Fentonovy reakce. Vliv na vznik zánětu má také množství mědi, její nedostatek vede k nedostatečné funkci superoxid dismutázy, to způsobuje větší uvolňování ROS. Nedostatek mědi také způsobuje snížení činnosti ceruloplazminu, to vede k nárůstu množství železa v organismu. Na vzniku zánětu v játrech se dále podílí změny ve složení střevní mikrobioty. Dochází k porušení těsných spojů mezi střevními buňkami a k přesunu bakterií a jejich toxických produktů do jater. Jednou z mikroorganismy produkovaných látek ovlivňujících vznik zánětu jsou lipopolysacharidy (pocházejí z Gram-negativních bakterií). Lipopolysacharidy aktivují receptor TLR4 imunitních buněk (Kupfferovy buňky, makrofágy), dochází k produkci prozánětlivých cytokinů (TNF α , IL – 6, IL – 1 β). Dalšími složkami bakterií, které vedou k prozánětlivé reakci jsou peptidoglykan (z Gram-pozitivních bakterií, aktivuje TLR2), flagellin (aktivuje TLR5) a bakteriální DNA (aktivuje TLR9). Střevní bakterie také tvoří ethanol, ten je v játrech metabolizován na acetaldehyd, který podporuje tvorbu ROS. Prozánětlivé účinky má také inhibice FXR v důsledku změn zastoupení žlučových kyselin. Dalším cestou vedoucí ke vzniku steatohepatitidy je aktivace inflammasomu (komplex proteinů v cytoplazmě podílející se na zánětlivé reakci). K aktivaci inflammasomu vede působení lipotoxických lipidů, ROS, produktů střevních bakterií (bakteriální DNA). Aktivovaný inflammasom zvyšuje tvorbu prozánětlivých cytokinů (IL – 1 β , IL – 18), to může vést k smrti buňky. [40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47]



Obrázek 4 – vznik NASH

4.2 Fibróza, cirhóza

Nealkoholická steatohepatitida vede ke vzniku jaterní fibrózy – dochází k aktivaci hojivého procesu a k akumulaci proteinů extracelulární matrix v játrech. Extracelulární matrix produkují myofibroblasty, ty v játrech vznikají přeměnou hvězdicových buněk, portálních fibroblastů a dalších druhů buněk. Aktivované Kupfferovy buňky a makrofágy produkují TGF β (cytokin) který aktivuje hvězdicové buňky. Zničení jaterních buněk zánětem vede k aktivaci progenitorových buněk, které se mění na buňky podobné cholangiocytům, které podporují fibrózu. Mezi mechanismy, pomocí kterých progenitorové buňky podporují vznik fibrózy patří produkce TGF β a PDGF, ty aktivují hvězdicové buňky. Na fibrózu mají vliv také adipokiny. Leptin podporuje fibrózu pomocí podpory tvorby TGF β Kupfferovými buňkami. Leptin také aktivuje JAK/STAT, to vede k nárůstu hladiny TIMP, ten inhibuje proteázy štěpící extracelulární matrix (MMP). Adiponektin působí naopak proti fibróze, jeho množství při NAFLD a NASH klesá, množství leptinu stoupá. Na aktivaci hvězdicových buněk se zřejmě podílí také nárůst hladiny resistinu. Během NAFLD dochází v játrech ke zvýšené aktivaci renin-angiotenzinového systému, ten podporuje činnost TGF β a proliferaci hvězdicových buněk. Nealkoholická steatóza je navíc spojená s inzulinovou rezistencí, ta vede k nárůstu koncentrace inzulinu v krvi, inzulin se poté podílí na aktivaci hvězdicových buněk. Na vzniku jaterní fibrózy mají podíl také změny střevní mikrobioty. Bakteriemi produkováné lipopolysacharidy podporují fibrózu pomocí podpory působení TGF β . Změny v zastoupení jednotlivých žlučových kyselin vyvolané změnami ve složení střevní mikrobioty vedou k inhibici jaderného receptoru FXR, ten působí proti fibróze – inhibuje aktivaci hvězdicových buněk. Dalším faktorem je oxidační stres a stres endoplazmatického retikula. Stres endoplazmatického retikula zvyšuje míru autofagie v hvězdicových buňkách, ta se uplatňuje během jejich přeměny na myofibroblasty. Aktivaci hvězdicových buněk indukuje také zvýšené množství ROS. Vzniklé myofibroblasty produkují extracelulární matrix (hlavní složkou je kolagen), ta se hromadí v Disseově prostoru. Dále dochází k vymizení fenestrace ve stěně sinusoid a ke zhoršení kontaktu mezi krví v sinusoidách a hepatocyty. Myofibroblasty také produkují TGF β . Vliv na vznik fibrózy má také ovlivnění angiogeneze. Během zánětu vzniká v tkáni hypoxie, dochází k nárůstu produkce VEGF, ten podporuje angiogenezi. VEGF se také podílí na aktivaci hvězdicových buněk, ty se na druhou stranu podílí na angiogenezi pomocí produkce VEGF, PDGF a angiopoetinu 1. Jaterní fibróza má za následek jaterní cirhózu – dochází k porušení stavby jater, vznikají uzly jaterní tkáně oddělené fibrózními septy. [48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 44, 67]



Obrázek 5 – vznik fibrózy při NASH

(LPS – lipopolysacharid, HPC – progenitorové buňky, Shh – sonic hedgehog) [44]

4.3 Hepatocelulární karcinom

Dalším možným následkem nealkoholické steatózy a nealkoholické steatohepatitidy je vznik hepatocelulárního karcinomu. Při vzniku NASH dochází k porušení funkce mitochondrií a endoplazmatického retikula, to vede k nárůstu množství ROS, ty poškozují DNA, tím podporují vznik rakoviny. Na vzniku rakoviny jater se podílí také nárůst hladiny železa, mechanismem je zřejmě oxidační stres. Na vzniku hepatocelulárního karcinomu se může podílet také autofagie. Podle některých studií vede porucha autofagie během NASH k hromadění látek podporujících oxidační stres, tím podporuje tvorbu rakoviny. Autofagie ale také může podporovat přežití rakovinných buněk. Podle jiných výzkumů ale autofagie působí proti vzniku karcinomu. Při NAFLD a NASH dochází k aktivaci imunitních buněk a k produkci cytokinů, některé cytokiny podporují vznik rakoviny. Jedním z cytokinů podporujících karcinogenezi je IKK β – ten aktivuje NF – κ B. Proonkogenní účinky má také TNF α , který aktivuje JNK a NF – κ B. Podle některých výzkumů ale aktivace NF – κ B může také působit proti vzniku nádoru. Vznik karcinomu podporuje dále také inzulinová rezistence. Zvýšené množství inzulinu a IGF – 1 aktivuje IRS – 1, ten aktivuje MAPK a PI3K, které podporují proliferaci buněk a inhibují apoptózu. Dalším faktorem vedoucím ke vzniku hepatocelulárního karcinomu je množství a složení střevní mikrobioty. Dochází k nárůstu přísunu toxických produktů střevní bakterií (největší význam mají lipopolysacharidy) do jater a k aktivaci imunitních buněk, ty poté produkují cytokiny podporující vznik nádoru (TNF α , ten aktivuje NF – κ B). Dochází také k nárůstu množství sekundárních žlučových kyselin, kyselina deoxycholová poškozují DNA, tím se podílí na vzniku rakoviny. Na vzniku karcinomu jater se může podílet také jaterní fibróza. Jedním z možných mechanismů je

porucha ve funkci aktivovaných progenitorových buněk, které poté nereagují na signály k apoptóze. Riziko vzniku hepatocelulárního karcinomu zvyšuje také přítomnost steatózu podporující varianty genu pro PNPLA3. [56, 57, 58, 59, 60, 61]

4.4 Kardiovaskulární onemocnění

Jedním z dalších následků nealkoholické jaterní steatózy je zvýšené riziko vzniku kardiovaskulárních chorob. Kardiovaskulární onemocnění jsou hlavní příčinou úmrtí u pacientů s NAFLD. NAFLD vede ke vzniku aterosklerózu podporující formy dyslipidemie (nárůst množství VLDL, pokles HDL, změna složení LDL a HDL částic). Během NAFLD roste tvorba ROS, dochází k oxidaci LDL částic, oxidované LDL podporují vznik aterosklerózy. Steatóza je spojená s nárůstem tuhosti stěny tepen, ta vede k nárůstu krevního tlaku. Dalším faktorem spojujícím NAFLD s kardiovaskulárními onemocněními je inzulinová rezistence. Porucha působení inzulinu v endotelu zřejmě vede k vasokonstrikci a k podpoře vzniku hypertenze. Roli má také adiponektin – pokles jeho množství během NAFLD podporuje aterosklerózu. Během steatózy jater dochází k nárůstu hladiny hepatokinů, ty poté podporují vznik kardiovaskulárních chorob. Jedním z nich je fetuin – A, který podporuje vznik aterosklerózy. Dalším hepatokinem s negativními účinky na kardiovaskulární systém je FGF21. Na vzniku kardiovaskulárních onemocnění se podílí také nerovnováha střevní mikrobioty. Změny ve složení mikrobioty vedou k nárůstu produkce trimethylamin-N-oxidu (vzniká z cholinu), ten se podílí na vzniku aterosklerózy. [62, 63, 64, 65, 66]

4.5 Chronické onemocnění ledvin

Nealkoholická steatóza a s ní spojená onemocnění mohou také vést k poškození ledvin. Jedním z faktorů podporujících vznik NAFLD je zvýšený příjem fruktózy, ten vede také k nárůstu produkce kyseliny močové, která poté poškozuje ledviny. Během NAFLD klesá hladina adiponektinu, to vede k menší aktivaci AMPK. Pokles činnosti AMPK má v ledvinách prozánětlivé a profibrotické účinky. Další součástí NAFLD a NASH je zánět v játrech, při něm dochází k uvolnění prozánětlivých cytokinů do krve, uvolněné cytokiny se podílejí na vzniku onemocnění ledvin. Na vzniku onemocnění ledvin se podílí také inzulinová rezistence. Dalším faktorem, který se podílí na poškození ledvin je změna složení střevní mikrobioty. Střevní bakterie produkují látky toxické pro ledviny, patří mezi ně například kyselina hippurová a kyselina fenylactová. Bakterie produkují také trimethylamin, cresol a indol, které jsou přeměňovány játry na nefrotoxické látky (trimethylamin-N-oxid, p-cresoyl sulfát a indol sulfát). [67, 68, 69, 70, 71, 72]

5 Diagnostika

5.1 Biochemie

Během nealkoholické steatózy může dojít k nárůstu hladiny jaterních enzymů – ALT, AST, GMT a ALP. U většiny (téměř 80%) pacientů s NAFLD ale k nárůstu hladiny těchto enzymů nad referenční rozmezí nedochází. Jedním z důvodů je, že nárůst množství enzymů nepřekročí horní hranici referenčního rozmezí. Snížení horní referenční hranice u ALT vede k nárůstu přesnosti stanovení. Podle některých studií hodnota GMT roste během fibrózy. Při fibróze dochází také k nárůstu poměru AST/ALT. Hodnoty ALT a AST jsou také součástí různých panelů biomarkerů pro určení steatózy a steatohepatitidy. [73, 74, 75, 79, 80, 81, 83]

Při NAFLD a NASH se také mění množství a zastoupení různých lipidů v krvi. Během nealkoholické steatózy roste koncentrace triacylglycerolů s mastnými kyselinami s krátkými řetězci a s dvojnými vazbami. Během NAFLD také u tuků uložených v játrech a přítomných v séru roste podíl nasycených a mononenasycených mastných kyselin. Dále se zvyšuje množství diacylglycerolů, cholesterolu a podle jedné studie také ceramidů. Na druhou stranu klesá množství polynenasycených mastných kyselin a fosfatidylcholinu. NAFLD může vyvolat dyslipidemii, při které klesá podíl a mění se složení HDL lipoproteinů (klesá podíl HDL₂), roste podíl VLDL částic a roste zastoupení small dense LDL. [76, 77, 78, 33]

Jednou z látek, pomocí kterých může být diagnostikována nealkoholická steatohepatitida jsou fragmenty cytokeratinu (CK) – 18. Cytokeratin – 18 je hlavní protein intermediálních filament v hepatocytech, během jejich apoptózy se do krve uvolňují jeho fragmenty. Pomocí fragmentů cytokeratinu – 18 (CK – 18 M30 – marker apoptózy – je stanovován cytokeratin – 18 rozštěpený kapsázami) lze odlišit NASH od steatózy bez přítomnosti zánětu, jejich koncentrace se zvyšuje s nárůstem zánětu. Citlivost stanovení NASH pomocí CK – 18 je 66-78 %, specifčnost je 82-87 %. CK – 18 M65 a M65ED jsou markery apoptózy i nekrózy (je stanovován cytokeratin – 18 rozštěpený i nerozštěpený kapsázami) a je s jejich pomocí možné určit stupeň fibrózy. Na NASH poukazuje také pokles hladiny adiponektinu. Během nealkoholické steatohepatitidy dochází rovněž k nárůstu hladiny IL – 6 a TNF α , jejich koncentrace ale roste i při mnoha jiných onemocněních při kterých vzniká zánět, množství TNF α stoupá také při rakovině. Při NASH roste rovněž koncentrace některých microRNA (miRNA) v krvi, například miRNA – 122.

Nárůst koncentrace ferritinu funguje jako marker fibrózy. Mezi další látky poukazujícími na fibrózu patří kyselina hyaluronová, PIIINP a pro – C3, jejich množství se mění během změn v extracelulární matrix. Koncentrace těchto látek jsou součástí panelů biomarkerů pro fibrózu. [73, 74, 79, 80, 81, 82, 83, 84]

Tabulka 1 – referenční hodnoty markerů NAFLD, NASH a fibrózy

[73, 103, 104, 105, 80, 106]

ALT	muži: <0,49; ženy: <0,32 μ kat/l
AST	muži: <0,42; ženy: <0,38 μ kat/l
GMT	muži: <0,48; ženy: <0,35 μ kat/l
CK – 18 M30	do cca 220 U/l
CK – 18 M65	do cca 450 U/l
CK – 18 M65ED	do cca 300 U/l
kyselina hyaluronová	<30 μ g/l
adiponektin	>7 mg/l

V tabulce 1 jsou uvedeny orientační referenční hodnoty biomarkerů nealkoholické steatózy, steatohepatitidy a fibrózy. U některých markerů (hlavně CK – 18) se ale referenční hodnoty, používané v různých studiích výrazně liší. Velké rozdíly jsou také mezi citlivostí, specifitostí a pozitivní a negativní predikční hodnotou získanou v různých studiích.

Tabulka 2 – rozdíly ve výsledcích použití CK – 18 pro určení NASH v různých studiích

[73, 104, 103]

CK – 18 M30			CK – 18 M65		
referenční hodnota [U/l]	citlivost; specifitost [%]	PPV; NPV [%]	referenční hodnota [U/l]	citlivost; specifitost [%]	PPV; NPV [%]
<207	84; 87	90; 80	<790	78; 85	
<136	69,2; 65,2	36; 88,2	<340	79,6; 66,7	86,8; 53,8
<235,5	69; 64,9	75,5; 57,1	<389	69,2; 71,7	40,9; 89,2
<233	85; 86,9	93,7; 71,6	<790	62,3; 70,5	65,1; 67,9
<395	86; 100		<386	100; 80	
<111	82; 30				
<261,35	36; 98				

Větší přesnost při určení NAFLD, NASH a fibrózy pravděpodobně má stanovení profilu krevních lipidů, to v některých studiích vykazuje vysokou hodnotu citlivosti, specifčnosti a dalších ukazatelů.

Tabulka 3 – stanovení NAFLD, NASH a fibrózy pomocí krevních lipidů v různých studiích

[117, 118, 77]

		citlivost [%]	specifičnost [%]	PPV [%]	NPV [%]
lipidy (29)	NAFLD, NASH	92	93		
lipidy (10)	fibróza	97	99		
triacylglyceroly (11)	NAFLD	98	78	89	88
triacylglyceroly (20)	NASH	83	94	89	90
triacylglyceroly (11)	NAFLD	94	57	98	25
triacylglyceroly (20)	NASH	70	81	81	69
triacylglyceroly (3), fosfatidylcholin (4)	NAFLD	69,5	78,6	72,4	76,2

5.2 Panely biomarkerů

Pro diagnostiku nealkoholické steatózy, stetohepatitidy a s ní spojené fibrózy byly vytvořeny různé panely skládající se z hodnot několika ukazatelů. Mezi panely pro diagnostiku steatózy patří například fatty liver index (FLI) (ten se skládá z hodnoty BMI, obvodu pasu, triacylglycerolů a GMT) a hepatic steatosis index (HSI) (BMI, poměr ALT/AST, přítomnost diabetu). Dalším panelem je NAFLD liver fat score, skládá se z přítomnosti diabetu mellitu 2. typu a metabolického syndromu, hladiny inzulínu, AST a poměru AST/ALT. Mezi panely biomarkerů pro určení NASH patří například NASHTest (skládá se z 13 různých parametrů), HAIR (hypertenze, ALT, inzulínová rezistence), Palekar score (věk, pohlaví, poměr AST/ALT, BMI, kyselina hyaluronová) a Gholam score (AST a diabetes mellitus). U Palekar score má přítomnost tří a více parametrů citlivost přibližně 74% a specifčnost přibližně 66%. Většina těchto panelů pro NASH byla ale testována na omezeném vzorku pacientů a není jisté, jestli jsou všeobecně použitelné. Jedním z panelů biomarkerů pro určení fibrózy spojené s NAFLD je APRI, který se je tvořen hodnotou AST a krevních destiček. Tento test byl

vytvořen pro pacienty a hepatitidou C, podle některých studií má nízkou citlivost. Dalším panelem je FIB – 4 (věk, počet krevních destiček, AST a ALT), jeho citlivost je 85%, specifická 65%, má vysokou hodnotu NPV (95%) a nízkou hodnotu PPV. BARD score se skládá z BMI, poměru AST/ALT a přítomnosti diabetu mellitu 2. typu, podle některých studií má vysokou hodnotu NPV a nízkou hodnotu PPV. Mezi panely markerů pro fibrózu dále patří ELF (enhanced liver fibrosis), ten je tvořen koncentrací kyseliny hyaluronové, PIIINP a TIMP1, má citlivost 80% a specifická 90%. Dalším testem je Fibrometer, ten se skládá ze sedmi parametrů, má vysokou přesnost. [73, 74, 79, 80, 81, 83, 84, 87, 101, 102]

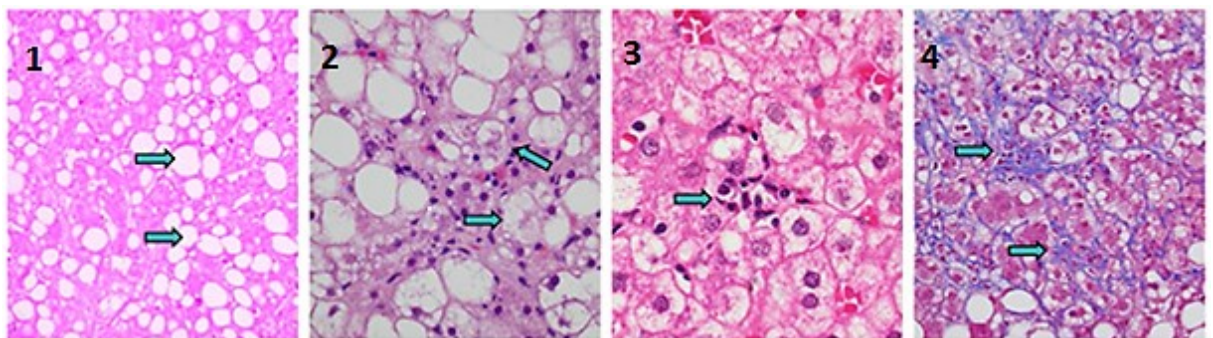
5.3 Zobrazovací techniky

Nejpoužívanější metodou pro diagnostiku jaterní steatózy je ultrazvuk. Jedná se o snadno dostupnou a levnou metodu. Její citlivost je 85%, specifická přibližně 94% při detekci střední a vážnější steatózy, v případě mírné steatózy ale citlivost klesá na přibližně 62 - 82%. Citlivost stanovení steatózy pomocí ultrazvuku je nízká v případě, kdy je obsah tuků v játrech pod 30% jejich hmotnosti (steatóza je definována jako stav, kdy tuky tvoří minimálně 5% hmotnosti jater). Ultrazvuk je také méně přesný u obézních osob. Další nevýhodou ultrazvuku je, že s jeho pomocí nelze detekovat steatohepatitidu a fibrózu. Jednou z dalších zobrazovacích metod pro diagnostiku NAFLD je počítačová tomografie (CT). Ta je stejně jako ultrazvuk použitelná k detekci steatózy až od 30 % podílu tuků na hmotnosti jater. CT má podle většiny studií vysokou specifická (nad 90%), citlivost se podle různých studií pohybuje mezi 60 – 100%. Nevýhodou metody je vystavení pacienta ionizačnímu záření. Další metodou je magnetická rezonance. Měření pomocí magnetické rezonance je přesnější než s pomocí ultrazvuku nebo CT a lze ji použít i pro detekci mírné steatózy (nad 5 % podíl tuků na hmotnosti jater). Nevýhodou magnetické rezonance je její vysoká cena. Jednou z metod magnetické rezonance je MRI (magnetic resonance imaging) – PDFF, tato metoda měří specificky množství tuků v játrech a její výsledky nejsou ovlivňovány obezitou. MRI má vysokou citlivost a specifická. Měření PDFF využívá také MRS (magnetic resonance spectroscopy). Metoda MMRI (multiparametric MRI) kombinuje několik metod magnetické rezonance a určuje steatózu i fibrózu. Další metodou je na magnetické rezonanci založená elastografie (MRE), která určuje fibrózu. CAP (controlled attenuation parameter) je metoda pro určení steatózy založená na ultrazvuku, k měření se používá zařízení pro elastografii. CAP je podle některých studií použitelný i k detekci mírné steatózy. K diagnostice fibrózy jater slouží elastografie (transient elastography, vibration controlled transient elastography

(VCTE)), ta měří pomocí ultrazvuku tuhost jaterní tkáně. Elastografie má citlivost 85 – 92% a specifickou 82 – 92% při detekci pokročilé fibrózy a cirhózy, spolehlivost metody může být snížena v případě obezity. [79, 80, 81, 83, 85, 86, 87]

5.4 Biopsie jater

Zlatým standardem v diagnostice nealkoholické steatózy je biopsie jater. Pomocí biopsie lze odlišit steatózu, steatohepatitidu, fibrózu a cirhózu, a určit stupeň fibrózy. S použitím biopsie je také možné vyloučit jiná onemocnění jater jako je například autoimunitní hepatitida a Wilsonova choroba. Jednou z nevýhod biopsie jater je její invazivnost a přítomnost malého rizika vzniku komplikací. Při biopsii je navíc analyzována pouze malá část jaterní tkáně, to může vést k chybě v případě, že poškození jater není rovnoměrně rozloženo po celých játrech. Existují také skórovací systémy (NAS, SAF), které posuzují míru NAFLD a NASH na základě histologického nálezu. Steatóza při NAFLD je většinou makrovezikulární. U NASH se vyskytuje lobulární zánět a balónové poškození hepatocytů. Může být přítomen také Malloryho hyalin. [88, 89, 80, 81, 90]



Obrázek 6 – histologický nálezn při steatóze (1), steatohepatidě (2, 3) a fibróze (4)

[7]

5.5 NAFLD při dalších onemocněních

Hodnoty různých biomarkerů nealkoholické steatózy mohou být ovlivněny souběžným výskytem metabolických onemocnění souvisejících s NAFLD jako je například obezita a diabetes mellitus 2. typu. U pacientů s NAFLD a diabetem 2. typu je onemocnění závažnější, dochází k většímu výskytu nealkoholické steatohepatitidy s fibrózy. Při NAFLD a diabetu se více vyskytuje hypertenze. U osob s NAFLD a diabetem dochází podle některých studií oproti osobám s NAFLD bez diabetu k nárůstu poměru AST/ALT, hodnot GMT. Roste množství

triacylglycerolů, klesá koncentrace HDL cholesterolu. Podle jedné studie dochází také k nárůstu množství některých acylkarnitinů. Při společném výskytu NAFLD a inzulinové rezistence podle některých studií roste hladina triacylglycerolů. U pacientů s NAFLD a diabetem 2. typu dochází ve srovnání s pacienty s diabetem bez NAFLD k nárůstu koncentrace ALT, AST, triacylglycerolů, cholesterolu, klesá množství HDL cholesterolu, roste koncentrace LDL cholesterolu. Podle některých výzkumů také stoupá hladina glykovaného hemoglobinu (HbA1c). U obézních osob s NAFLD jsou oproti obézním osobám bez přítomnosti NAFLD zvýšené hodnoty jaterních enzymů (ALT, AST, GMT), triacylglycerolů, dochází k poklesu HDL cholesterolu. Podle jedné studie klesá koncentrace lysofosfatidylcholinu, fosfatidylcholinů a sfingolipidů. [94, 95, 96, 97, 98, 99, 100]

5.6 NAFLD a alkoholové poškození jater (ALD)

U onemocnění jater způsobeného alkoholem se oproti NAFLD vyskytuje vyšší poměr AST/ALT. Podle jedné ze studií při ALD dochází k nárůstu hladiny adiponektinu, zatímco při NAFLD jeho koncentrace klesá. Podle této studie se u ALD také nachází větší koncentrace TNF α než u NAFLD. U alkoholového onemocnění jater dochází dále k většímu nárůstu množství GMT než u NAFLD. Dalším ukazatelem odlišujícím ALD a NAFLD je ANI (ALD/NAFLD index), ten se skládá z hodnot AST, ALT, MCV, výšky, hmotnosti a z pohlaví, jeho použití má vysokou citlivost a specifickou. Rozdíly mezi ALD a NAFLD jsou také v histologii. Mikrovezikulární steatóza se vyskytuje většinou u ALD, u ní se také ve větší míře objevuje zánět a neutrofilů. U ALD se dále ve větší míře vyskytuje Malloryho hyalin v apoptotických buňkách. [110, 111, 112, 113, 114, 89, 90]

6 Léčba

6.1 Úprava životosprávy

Hlavním prvkem v léčbě nealkoholické steatózy, steatohepatitidy a fibrózy je úprava životosprávy za účelem snížení tělesné hmotnosti. Pokles hmotnosti o 7% vede ke snížení míry steatózy a steatohepatitidy, pokles hmotnosti o 10% snižuje míru fibrózy. Snížení tělesné hmotnosti také snižuje inzulinovou rezistenci. Zvýšení příjmu nenasycených mastných kyselin a snížení příjmu nasycených mastných kyselin vede k poklesu syntézy lipidů v játrech. Úroveň steatózy snižuje také zvýšená fyzická aktivita zřejmě i bez snížení tělesné hmotnosti. Existují také studie které poukazují na příznivý vliv mírné konzumace alkoholu.

Podle některých výzkumů příjem kofeinu působí proti fibróze a steatohepatidě. [107, 80, 6, 84, 108]

6.2 Léky

Jednou z látek používaných k léčbě NAFLD jsou thiazolidindiony (pioglitazon, rosiglitazon). Thiazolidindiony aktivují PPAR γ , to vede k nárůstu produkce adiponektinu, ten zvyšuje citlivost k inzulinu, působí proti steatóze a zánětu. Aktivace PPAR γ také zvyšuje příjem mastných kyselin tukovou tkání, to vede k jejich menšímu přísunu do jater. Thiazolidindiony působí podle některých výzkumů také proti fibróze. Nevýhodou thiazolidindionů jsou jejich vedlejší účinky, mezi které patří nárůst tělesné hmotnosti, osteoporóza a selhání srdce.

Mezi látky s možným účinkem proti NAFLD patří metformin. Metformin slouží k léčbě diabetu mellitu 2. typu, snižuje inzulinovou rezistenci, a podle některých studií u pacientů s NAFLD snižuje hladinu aminotransferáz. Pouze u menšího počtu studií ale došlo ke zlepšení histologického nálezu. Není jisté, jestli lze metformin použít k léčbě NAFLD. Citlivost k inzulinu zvyšují také agonisté GLP – 1 (liraglutid), tyto látky rovněž snižují tělesnou hmotnost. V provedených studiích agonisté GLP – 1 zlepšují stav u pacientů s NASH. Další látkou zvyšující citlivost k inzulinu je obeticholová kyselina, ta působí jako agonista FXR. Aktivace FXR v játrech také snižuje tvorbu lipidů a glukoneogenezi. Obeticholová kyselina snižuje míru steatohepatitidy a fibrózy. Obeticholová kyselina ale také může zvyšovat množství LDL cholesterolu.

K léčbě NAFLD je používán také vitamín E. Vitamín E má antioxidační účinky, podle některých výzkumů působí proti steatóze a steatohepatidě. Některé studie ale neprokázaly jeho účinky, vitamín E také nepůsobí proti fibróze. Podávání vitamínu E navíc podle některých výzkumů vede k nárůstu úmrtnosti, nárůstu výskytu rakoviny prostaty a mrtvice. Dalšími léky, které mohou být využity k léčbě NAFLD jsou statiny. Statiny snižují množství lipidů, a u osob s NAFLD zlepšují biochemický nález. Není ale jisté, jestli způsobují zlepšení také při histologii. Ursodeoxycholová kyselina podle některých studií zlepšuje u pacientů s NAFLD hodnoty aminotransferáz a stav steatózy. V některých výzkumech vedlo podávání ursodeoxycholové kyseliny společně s vitamínem E ke zlepšení histologického nálezu. Jednou z testovaných látek je také elafibranor (agonista PPAR α a PPAR δ), ten snižuje inzulinovou rezistenci a má protizánětlivé účinky, může působit proti NASH. Cenicriviroc (inhibuje CCR 2 a CCR 5) má protizánětlivé a protifibrotické účinky, může snižovat míru fibrózy. Další možností je použití léků pro snížení tělesné hmotnosti. Podávání orlistatu

(inhibitor pankreatické lipázy) vede podle některých studií k zlepšení hodnot ALT a stavu steatózy. [107, 80, 6, 7, 84, 109]

6.3 Bariatrická chirurgie

K léčbě nealkoholické jaterní steatózy a steatohepatitidy lze použít také bariatrickou chirurgii. Její použití vede ke zlepšení stavu u pacientů s NASH. U osob s cirhózou vede ale bariatrická chirurgie podle některých studií k nárůstu rizika selhání jater. [107, 6, 84]

7 Závěr

Hlavní příčinou nealkoholické jaterní steatózy je nevhodná životospráva vedoucí ke vzniku obezity a inzulínové rezistence, které poté způsobují akumulaci tuků v játrech. Hlavním k tomu vedoucí mechanismem je porušení funkce tukové tkáně. Na vzniku NAFLD se podílí také změny ve složení střevní mikrobioty (k nim vede nevhodná skladba potravy) a genetické predispozice. Ukládání tuků v játrech samo o sobě nepředstavuje zdravotní riziko, faktory vedoucí k němu ale v některých případech vedou ke vzniku zánětu v játrech (NASH) a k jaterní fibróze a cirhóze, to způsobuje nedostatečnou funkčnost jater. Mechanismy vedoucí ke vzniku NAFLD a NASH mohou také způsobit vznik hepatocelulárního karcinomu. NAFLD se navíc podílí také na vzniku mimojaterních chorob. Steatóza mění zastoupení lipoproteinů v krvi, to zvyšuje riziko vzniku aterosklerózy. NAFLD se podílí také na vzniku hypertenze, diabetu 2. typu a onemocnění ledvin. Zlatým standardem v diagnostice NAFLD, NASH a fibrózy je biopsie jater, jedná se ale o invazivní metodu. Jednou z možností neinvazivní diagnostiky jsou biochemické testy (jaterní enzymy, fragmenty cytokeratinu – 18, kyselina hyaluronová). Existují také různé diagnostické panely kombinující několik ukazatelů. Diagnostika pomocí těchto metod ale mívá menší spolehlivost. Jedním z možných ukazatelů nealkoholické steatózy jsou také změny v zastoupení jednotlivých lipidů v krvi. Další možnosti jsou zobrazovací techniky (ultrazvuk, CT, magnetická rezonance, elastografie), ty jsou obvykle spolehlivější než biochemické testy. Hlavním prostředkem k léčbě NAFLD, NASH a fibrózy je změna životosprávy (snížení tělesné hmotnosti, cvičení, zlepšení stravování). Dále jsou k léčbě používány thiazolidindiony a vitamín E. Mezi testované léky patří například látky zlepšující citlivost k inzulínu, statiny a ursodeoxycholová kyselina.

8 Zdroje

1. RECCIA, I., KUMAR, J., AKLADIOS, C., VIRDIS, F., PAI, M., HABIB, N., SPALDING, D. Non-alcoholic fatty liver disease: a sign of systemic disease. *Metabolism*, 2017, 72, s. 94 – 108.
2. FABBRINI, E., SULLIVAN, S., KLEIN, S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: Biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology*, 2010, 51(2), s. 679 – 689.
3. MILIC, S., LULIC, D., STIMAC, D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: Biochemical, metabolic and clinical presentations. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(28), s. 9330 – 9337.
4. PETERSEN, M. C., SHULMAN, G. I. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiological Reviews*, 2017, 98(4), s. 2133 – 2223.
5. HOOPER, AMANDA J., ADAMS, LEON A., BURNETT, JOHN R. Genetic determinants of hepatic steatosis in man. *Journal of lipid research*, 2011, 52(4), s. 593 – 617.
6. HASSAN, K., BHALLA, V., EL REGAL, M. E., A-KADER, H. H. Nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of a growing epidemic. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(34), s. 12082 – 12101.
7. FRIEDMAN, S. L., NEUSCHWANDER-TETRI, B. A., RINELLA, M., SANYAL, A. J. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nature medicine*, 2018, 24(7), s. 908 – 922.
8. ESLAM, M., VALENTI, L., ROMEO, S. Genetics and epigenetics of NAFLD and NASH: Clinical impact. *Journal of hepatology*, 2018, 68(2), s. 268 – 279.
9. JACKULIAKOVÁ, D., VAVERKOVÁ, H., ŠČUDLA, V. Nealkoholická steatóza jaterní: Má smysl se jí zabývat? *Medicína pro praxi*, 2009, 6(4), s. 187 – 190.
10. BIRKENFELD, A. L., SHULMAN, G. I. Nonalcoholic fatty liver disease, hepatic insulin resistance, and type 2 Diabetes. *Hepatology*, 2014, 59(2), s. 713 – 723.
11. CHU, H., WILLIAMS, B., SCHNABL, B. Gut microbiota, fatty liver disease, and hepatocellular carcinoma. *Liver research*, 2018, 2(1), s. 43 – 51.
12. DUARTE, S. M. B., STEFANO, J. T., OLIVEIRA, C. P. Microbiota and nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH). *Annals of hepatology*. 2019, 18(3), s. 416 – 421.
13. ACHARYA, C., BAJAJ, J. S. Gut microbiota and non-alcoholic fatty liver disease: new insights. *Gastroenterology clinics of North America*, 2017, 46(1), s. 155 – 169.

14. KUMAR, R., MOHAN, S. Non-alcoholic Fatty Liver Disease in Lean Subjects: Characteristics and Implications. *Journal of clinical and translational hepatology*, 2017, 5(3), s. 216 – 223.
15. YUXIN WANG, A., DHALIWAL, J., MOUZAKI, M. Lean non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical nutrition*, 2019, 38, s. 975 – 981.
16. DONGIOVANNI, P., FRACANZANI, A. L., FARGION, S., VALENTI, L. Iron in fatty liver and in the metabolic syndrome: A promising therapeutic target. *Journal of hepatology*, 2011, 55(4), s. 920 – 932.
17. BRITTON, L. J., SUBRAMANIAM, V. N., CRAWFORD, D. H. Iron and non-alcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*, 2016, 22(36), s. 8112 – 8122.
18. MACHADO, M. V., DIEHL, A. M. Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*, 2016, 150(8), s. 1769 – 1777.
19. SAMUEL, V. T., SHULMAN, G. I. Nonalcoholic Fatty Liver Disease as a Nexus of Metabolic and Hepatic Diseases. *Cell metabolism*, 2018, 27(1), s. 22 – 41.
20. PETTA, S., GASTALDELLI, A., REBELOS, E., BUGIANESI, E., MESSA, P., MIELE, L., SVEGLIATI-BARONI, G., VALENTI, L., BONINO, F. Pathophysiology of Non Alcoholic Fatty Liver Disease. *International journal of molecular sciences*, 2016, 17(12), s. 2082.
21. KAWANO, Y., COHEN, D. E. Mechanisms of hepatic triglyceride accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of gastroenterology*, 2013, 48(4), s. 434 – 441.
22. KOO, S. H. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Molecular Mechanisms for the Hepatic Steatosis. *Clinical and molecular hepatology*, 2013, 19(3), s. 210 – 215.
23. WILLIAMS, K. H., SHACKEL, N. A., GORRELL, M. D., MCLENNAN, S. V., TWIGG, S. M. Diabetes and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Pathogenic Duo. *Endocrine reviews*, 2013, 34(1), s. 84 – 129.
24. SAFARI, Z., GÉRARD, P. The links between the gut microbiome and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2019, 76, s. 1541 – 1558.
25. GAN, L., XIANG, W., XIE, B., YU, L. Molecular mechanisms of fatty liver in obesity. *Frontiers of medicine*, 2015, 9(3), s. 275 – 287.
26. KIM, O. K., JUN, W., LEE, J. Mechanism of ER Stress and Inflammation for Hepatic Insulin Resistance in Obesity. *Annals of nutrition & metabolism*, 2015, 67(4), s. 218 – 227.
27. NANDIPATI, K. C., SUBRAMANIAN, S., AGRAWAL, D. K. Protein kinases: mechanisms and downstream targets in inflammation mediated obesity and insulin resistance. *Molecular and cellular biochemistry*, 2017, 426(1 – 2), s. 27 – 45.

28. CHEN, L., CHEN, R., WANG, H., LIANG, F. Mechanisms Linking Inflammation to Insulin Resistance. *International journal of endocrinology*, 2015
29. VALENTI, L., BUGIANESI, E., PAJVANI, U., TARGHER, G. Nonalcoholic fatty liver disease: cause or consequence of type 2 diabetes? *Liver international*, 2016, 36(11), s. 1563 – 1579.
30. SAMUEL, V. T., SHULMAN, G. I. Integrating Mechanisms for Insulin Resistance: Common Threads and Missing Links. *Cell*, 2012, 148(5), s. 852 – 871.
31. PETERSEN, M. C., SHULMAN, G. I. Roles of Diacylglycerols and Ceramides in Hepatic Insulin Resistance. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2017, 38, s. 649 – 665.
32. IPSEN, D. H., TVEDEN-NYBORG, P., LYKKESFELDT, J. Dyslipidemia: Obese or Not Obese—That Is Not the Question. *Current obesity reports*, 2016, 5(4), s. 405 – 412.
33. HØJLAND IPSEN, D., TVEDEN-NYBORG, P., LYKKESFELDT, J. Normal weight dyslipidemia: Is it all about the liver? *Obesity*, 2016, 24(3), s. 556 – 567.
34. KATSIKI, N., MIKHAILIDIS, D. P., MANTZOROS, C. S. Non-alcoholic fatty liver disease and dyslipidemia: An update. *Metabolism*, 2016, 65(8), s. 1109 – 1123.
35. WAINWRIGHT, P., BYRNE, C. D. Bidirectional Relationships and Disconnects between NAFLD and Features of the Metabolic Syndrome. *International journal of molecular sciences*, 2016, 17(3).
36. LONARDO, A., BALLESTRI, S., MARCHESINI, G., ANGULO, P., LORIA, P. Nonalcoholic fatty liver disease: A precursor of the metabolic syndrome. *Digestive and Liver Disease*, 2015, 47(3), s. 181 – 190.
37. POLYZOS, S. A., KOUNTOURAS, J., MANTZOROS, C. S. Adipokines in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*, 2016, 68(8), s. 1062 – 1079.
38. STOJSAVLJEVIĆ, S., GOMERČIĆ PALČIĆ, M., VIROVIĆ JUKIĆ, L., SMIRČIĆ DUVNJAK, L., DUVNJAK, M. Adipokines and proinflammatory cytokines, the key mediators in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(48), s. 18070 – 18091.
39. ASRIH, M., JORNAYVAZ, F. R. Metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease: Is insulin resistance the link? *Molecular and cellular endocrinology*, 2015, 418, s. 55 – 65.
40. CALIGIURI, A., GENTILINI, A., MARRA, F. Molecular Pathogenesis of NASH. *International of molecular sciences*, 2016, 17(9).
41. KIM, K. H., LEE, M-S. Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis and Hormone-Based Therapeutic Approaches. *Frontiers in endocrinology*, 2018, 9.

42. ANTONUCCI, L., PORCU, C., IANNUCCI, G., BALSANO, C., BARBARO, B. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Nutritional Implications: Special Focus on Copper. *Nutrients*, 2017, 9(10).
43. AIGNER, E., WEISS, G., DATZ, C. Dysregulation of iron and copper homeostasis in nonalcoholic fatty liver. *World journal of hepatology*, 2015, 7(2), s. 177 – 188.
44. LIU, W., BAKER, R. D., BHATIA, T., ZHU, L., BAKER, S. S. Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2016, 73(10), s. 1969 – 1987.
45. MARRA, F., SVEGLIATI-BARONI, G. Lipotoxicity and the gut-liver axis in NASH pathogenesis. *Journal of hepatology*, 2018, 68(2), s. 280 – 295.
46. BOZAYKUT, P., SAHIN, A., KARADEMIR, B., OZER, N. K. Endoplasmic reticulum stress related molecular mechanisms in nonalcoholic steatohepatitis. *Mechanisms of ageing and development*, 2016, 157, s. 17 – 29.
47. IOANNOU, G. N. The Role of Cholesterol in the Pathogenesis of NASH. *Trends in endocrinology and metabolism*, 2016, 27(2), s. 84 – 95.
48. MARRA, F., PROVENZANO, A., VIVOLI, E. Mechanisms of Fibrosis in Steatohepatitis. *Current Hepatology Reports*, 2014, 13, s. 142 – 150.
49. BIAN, Z., MA, X. Liver fibrogenesis in non-alcoholic steatohepatitis. *Frontiers in physiology*, 2012, 3.
50. FUJII, H., KAWADA, N. Inflammation and fibrogenesis in steatohepatitis. *Journal of gastroenterology*, 2012, 47(3), s. 215 – 225.
51. SCHUPPAN, D., SURABATTULA, R., WANG, X. Y. Determinants of fibrosis progression and regression in NASH. *Journal of hepatology*, 2018, 68(2), s. 238 – 250.
52. CAI, X., WANG, J., WANG, J., ZHOU, Q., YANG, B., HE, Q., WENG, Q. Intercellular crosstalk of hepatic stellate cells in liver fibrosis: New insights into therapy. *Pharmacological research*, 2020, 155.
53. AYDIN, M. M., AKÇALI, K. C. Liver fibrosis. *The Turkish journal of gastroenterology*, 2018, 29(1), s. 14 – 21.
54. KOYAMA, Y., BRENNER, D. A. Liver inflammation and fibrosis. *The Journal of clinical investigation*, 2017, 127(1), s. 55 – 64.
55. SPOREA, I., POPESCU, A., DUMITRAȘCU, D., BRISC, C., NEDELICU, L., TRIFAN, A., GHEORGHE, L., FIERBINȚEANU BRATICEVICI, C. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Status Quo. *Journal of gastrointestinal and liver diseases*, 2018, 27(4), s. 439 – 448.

56. KUTLU, O., KALELI, H. N, OZER, E. Molecular Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis- (NASH-) Related Hepatocellular Carcinoma. *Canadian journal of gastroenterology & hepatology*, 2018.
57. SIRCANA, A., PASCHETTA, E., SABA, F., MOLINARO, F., MUSSO, G. Recent Insight into the Role of Fibrosis in Nonalcoholic Steatohepatitis-Related Hepatocellular Carcinoma. *International journal of molecular sciences*, 2019, 20(7).
58. CHOLANKERIL, G., PATEL, R., KHURANA, S., SATAPATHY, S. K. Hepatocellular carcinoma in non-alcoholic steatohepatitis: Current knowledge and implications for management. *World journal of hepatology*, 2017, 9(11), s. 533 – 543.
59. REEVES, H. L., ZAKI, M. Y., DAY, C. P. Hepatocellular Carcinoma in Obesity, Type 2 Diabetes, and NAFLD. *Digestive diseases and sciences*, 2016, 61(5), s. 1234 – 1245.
60. ARGYROU, C., MORIS, D., VERNADAKIS, S. Hepatocellular carcinoma development in non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. Is it going to be the “Plague” of the 21st century? A literature review focusing on pathogenesis, prevention and treatment. *Journal of B. U. ON.*, 2017, 22(1), s. 6 – 20.
61. ZOLLER, H., TILG, H. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma. *Metabolism*, 2016, 65(8), s. 1151 – 1160.
62. FRANQUE, S. M., VAN DER GRAAFF, D., KWANTEN, W. J. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk: Pathophysiological mechanisms and implications. *Journal of hepatology*, 2016, 65 (2), s. 425 – 443.
63. DINANI, A., SANYAL, A. Nonalcoholic fatty liver disease: implications for cardiovascular risk. *Cardiovascular endocrinology*, 2017, 6(2), s. 62 – 72.
64. XU, X., LU, L., DONG, Q., LI, X., ZHANG, N., XIN, Y., XUAN, S. Research advances in the relationship between nonalcoholic fatty liver disease and atherosclerosis. *Lipids in health and disease*, 2015, 14.
65. LONARDO, A., NASCIMBENI, F., MANTOVANI, A., TARGHER, G. Hypertension, diabetes, atherosclerosis and NASH: Cause or consequence? *Journal of hepatology*, 2018, 68(2), s. 335 – 352.
66. TANA, C., BALLESTRI, S., RICCI, F., DI VINCENZO, A., TICINESI, A., GALLINA, S., GIAMBERARDINO, M. A, CIPOLLONE, F., SUTTON, R., VETTOR, R., FEDOROWSKI, A., MESCHI, T. Cardiovascular Risk in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Mechanisms and Therapeutic Implications. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, 16(17).

67. MARCUCCILLI, M., CHONCHOL, M. NAFLD and Chronic Kidney Disease. *International journal of molecular sciences*, 2016, 17(4).
68. MUSSO, G., CASSADER, M., COHNEY, S., DE MICHELI, F., PINACH, S., SABA, F., GAMBINO, R. Fatty Liver and Chronic Kidney Disease: Novel Mechanistic Insights and Therapeutic Opportunities. *Diabetes care*, 2016, 39(10), s. 1830 – 1845.
69. ORLIĆ, L., MIKOLASEVIC, I., BAGIC, Z., RACKI, S., STIMAC, D., MILIC, S. Chronic Kidney Disease and Nonalcoholic Fatty Liver Disease—Is There a Link? *Gastroenterology research and practice*, 2014.
70. BYRNE, C. D., TARGHER, G. NAFLD as a driver of chronic kidney disease. *Journal of hepatology*, 2020, 72(4), s. 785 – 801.
71. IX, J. H., SHARMA, K. Mechanisms Linking Obesity, Chronic Kidney Disease, and Fatty Liver Disease: The Roles of Fetuin-A, Adiponectin, and AMPK. *Journal of the american society of nephrology*, 2010, 21(3), s. 406 – 412.
72. TARGHER, G., BYRNE, C. D. Non-alcoholic fatty liver disease: an emerging driving force in chronic kidney disease. *Nature reviews. Nephrology*, 2017, 13(5), s. 297 – 310.
73. NEUMAN, M. G., COHEN, L. B., NANAU, R. M. Biomarkers in nonalcoholic fatty liver disease. *Canadian journal of gastroenterology and hepatology*, 2014, 28(11), s. 607 – 618.
74. SINGH, S. P., BARIK, R. K. NonInvasive Biomarkers in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Are We There Yet? *Journal of clinical and experimental hepatology*, 2020, 10(1), s. 88 – 98.
75. BI, W. B., YANG, C. Q., SHI, Q., XU, Y., CAO, C. P., LING, J., WANG, X. Y. Large-scale analysis of factors influencing nonalcoholic fatty liver disease and its relationship with liver enzymes. *Genetics and molecular research*, 2014, 13(3), s. 5880 – 5891.
76. ALISI, A., BARTULI, A., SALATA, M., VILLANI, A., NOBILI, V. Recent advances in biomarkers for noninvasive diagnosis of nonalcoholic steatohepatitis: the role of lipid analysis/ profiling. *Clinical lipidology*, 2011, 6(4), s. 427 – 436.
77. ORESIC, M., HYOTYLAINEN, T., KOTRONEN, A. a další. Prediction of non-alcoholic fatty-liver disease and liver fat content by serum molecular lipids. *Diabetologia*, 2013, 56(10), s. 2266 – 2274.
78. YANG, R. X., HU, C. X., SUN, W. L., PAN, Q., SHEN, F., YANG, Z., SU, Q., XU, G. – W., FAN, J. G. Serum Monounsaturated Triacylglycerol Predicts Steatohepatitis in Patients with Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Chronic Hepatitis B. *Scientific reports*, 2017, 7(1).

79. CASTERA, L., FRIEDRICH-RUST, M., LOOMBA, R. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*, 2019, 156(5), s. 1264 – 1281.
80. JENNISON, E., PATEL, J., SCORLETTI, E., BYRNE, C. D. Diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease. *Postgraduate medical journal*, 2019, 95(1124), s. 314 – 322.
81. OBIKA, M., NOGUCHI, HI. Diagnosis and Evaluation of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Experimental diabetes research*, 2012.
82. SHEN, J., CHAN, H. L., WONG, G. L., CHAN, A. W., CHOI, P. C., CHAN, H. Y., CHIM, A. M., YEUNG, D. K., YU, J., CHU, W. C., WONG, V. W. Assessment of non-alcoholic fatty liver disease using serum total cell death and apoptosis markers. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 2012, 36(11 – 12), s. 1057 – 1066.
83. LEITE, N. C., VILLELA-NOGUEIRA, C. A., CARDOSO, C. R. L., SALLES, G. F. Non-alcoholic fatty liver disease and diabetes: From physiopathological interplay to diagnosis and treatment. *World journal of gastroenterology*, 2014, 20(26), s. 8377 – 8392.
84. CHALASANI, N., YOUNOSSI, Z., LAVINE, J. E., DIEHL, A. M., BRUNT, E. M., CUSI, K., CHARLTON, M., SANYAL, A. J. The Diagnosis and Management of Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology*, 2012, 142(7), s. 1592 – 1609.
85. KINNER, S., REEDER, S. B., YOKOO, T. Quantitative Imaging Biomarkers of NAFLD. *Digestive diseases and sciences*, 2016, 61(5), s. 1337 – 1347.
86. HANNAH, W. N. J. R., HARRISON, S. A. Noninvasive imaging methods to determine severity of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 2016, 64(6), s. 2234 – 2243.
87. ZHOU, J. H., CAI, J. J., SHE, Z. G., LI, H. L. Noninvasive evaluation of nonalcoholic fatty liver disease: Current evidence and practice. *World journal of gastroenterology*, 2019, 25(11), s. 1307 – 1326.
88. YONEDA, M., IMAJO, K., TAKAHASHI, H., OGAWA, Y., EGUCHI, Y., SUMIDA, Y., YONEDA, M., KAWANAKA, M., SAITO, S., TOKUSHIGE, K., NAKAJIMA, A. Clinical strategy of diagnosing and following patients with nonalcoholic fatty liver disease based on invasive and noninvasive methods. *Journal of gastroenterology*, 2018, 53(2), s. 181 – 196.

89. BRUNT, E. M. Nonalcoholic fatty liver disease and the ongoing role of liver biopsy evaluation. *Hepatology communications*, 2017, 1(5), s. 370 – 378.
90. BEDOSSA, P. Histological Assessment of NAFLD. *Digestive diseases and sciences*, 2016, 61(5), s. 1348 – 1355.
91. FORLANI, G., GIORDA, C., MANTI, R., MAZZELLA, N., DE COSMO, S., ROSSI, M. C., NICOLUCCI, A., DI BARTOLO, P., CERIELLO, A., GUIDA, P. The Burden of NAFLD and Its Characteristics in a Nationwide Population with Type 2 Diabetes. *Journal of diabetes research*, 2016.
92. BUTT, A. S., HAMID, S., HAIDER, Z., SHARIF, F., SALIH, M., AWAN, S., KHAN, A. A., AKHTER, J. Nonalcoholic Fatty Liver Diseases among Recently Diagnosed Patients with Diabetes Mellitus and Risk Factors. *Euroasian journal of hepato-gastroenterology*, 2019, 9(1), s. 9 – 13.
93. COCCIA, F., TESTA, M., GUARISCO, G., BONCI, E., DI CRISTOFANO, C., SILECCHIA, G., LEONETTI, F., GASTALDELLI, A., CAPOCCIA, D. Noninvasive assessment of hepatic steatosis and fibrosis in patients with severe obesity. *Endocrine*, 2020, 67(3), s. 569 – 578.
94. BRIL, F., MILLÁN, L., KALAVALAPALLI, S., MCPHAUL, M. J., CAULFIELD, M. P., MARTINEZ-ARRANZ, I., ALONSO, C., BETES, P. O., MATO, J. M., CUSI, K. Use of a metabolomic approach to non-invasively diagnose non-alcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, obesity & metabolism*, 2018, 20(7), s. 1702 – 1709.
95. ALLER DE LA FUENTE, R., MORA CUADRADO, N., TAFUR, C., LÓPEZ GÓMEZ, J. J., GÓMEZ DE LA CUESTA, S., GARCÍA SÁNCHEZ, M. C., ANTOLIN MELERO, B., DE LUIS ROMÁN, D. A. Histopathological differences in patients with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease with and without type 2 diabetes. *Endocrinología diabetes y nutrición*, 2018, 65(6), s. 354 – 360.
96. ALAM, S., ANAM, K., ISLAM, S., MUSTAFA, G., AL MAMUN, A., AHMAD, N. Clinical, Anthropometric, Biochemical and Histological Character of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Without Insulin Resistance. *Journal of clinical and experimental hepatology*, 2019, 9(2), s. 176 – 181.
97. SINGHA, S. P., MISRAA, B., KARA, S. K., PANIGRAHIA, M. K., MISRAA, D., BHUYANB, P., PATTNAIKB, K., MEHERC, C., AGRAWALC, O., ROUTD, N., SWAIN, M. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) without insulin resistance: Is it different? *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 2015, 39, s. 482 – 488.

98. CHEN, Y., LI, C., LIU, L., GUO, F., LI, S., HUANG, L., SUN, C., FENG, R. Serum metabolomics of NAFLD plus T2DM based on liquid chromatography–mass spectrometry. *Clinical biochemistry*, 2016, 49(13 – 14), s. 962 – 966.
99. FELDMAN, A., EDER, S. K., FELDER, T. K., PAULWEBER, B., ZANDANELL, S., STECHEMESSER, L., SCHRANZ, M., STREBINGER, G., HUBER-SCHÖNAUER, U., NIEDERSEER, D., PATSCH, W., WEGHUBER, D., TEVINI, J., DATZ, C., AIGNER, E. Clinical and metabolic characterization of obese subjects without non-alcoholic fatty liver: A targeted metabolomics approach. *Diabetes & metabolism*, 2019, 45(2), s. 132 – 139.
100. GOH, G. B., PAGADALA, M. R., DASARATHY, J., UNALP-ARIDA, A., SARGENT, R., HAWKINS, C., SOURIANARAYANANE, A., KHIYAMI, A., YERIAN, L., PAI, R. K., DASARATHY, S., MCCULLOUGH, A. J. Clinical spectrum of non-alcoholic fatty liver disease in diabetic and non-diabetic patients. *BBA clinical*, 2014, 3, s. 141 – 145.
101. GOH, G. B., ISSA, D., LOPEZ, R., DASARATHY, S., DASARATHY, J., SARGENT, R., HAWKINS, C., PAI, R. K., YERIAN, L., KHIYAMI, A., PAGADALA, M. R., SOURIANARAYANANE, A., ALKHOURI, N., MCCULLOUGH, A. J. The development of a non-invasive model to predict the presence of non-alcoholic steatohepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 2016, 31(5), s. 995 – 1000.
102. SANAL, M. G. Biomarkers in nonalcoholic fatty liver disease-the emperor has no clothes? *World journal of gastroenterology*, 2015, 21(11), 3223 – 3231.
103. KWOK, R., TSE Y-K., WONG, G. L-H., HA, Y., LEE, A. U., NGU, M. C., CHAN, H. L-Y., WONG, V. W-S. Systematic review with meta-analysis: non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease – the role of transient elastography and plasma cytokeratin-18 fragments. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 2014, 39(3), s. 254 – 269.
104. DVORAK, K., STRITESKY, J., PETR TYL, J., VITEK, L., SROUBKOVA, R., LENICEK, M., SMID, V., HALUZIK, M., BRUHA, R. Use of Non-Invasive Parameters of Non-Alcoholic Steatohepatitis and Liver Fibrosis in Daily Practice - An Exploratory Case-Control Study. *PloS one*, 2014, 9(10).
105. XIA, M. F., YAN, H. M., LIN, H. D., BIAN, H., PAN, B. S., YAO, X. Z., LI, R. K., ZENG, M. S., GAO, X. Elevation of liver enzymes within the normal limits and metabolic syndrome. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 2011, 38(6), s. 373 – 379.

106. FRANZINI, M., FORNACIARI, I., FIERABRACCI, V., ELAWADI, H. A., BOLOGNESI, V., MALTINTI, S., RICCHIUTI, A., DE BORTOLI, N., MARCHI, S., POMPELLA, A., PASSINO, C., EMDIN, M., PAOLICCHI, A. Accuracy of b-GGT fraction for the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver international*, 2012, 32(4), s. 629 – 634.
107. SINGH, S., OSNA, N. A., KHARBANDA, K. K. Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: A review. *World journal of gastroenterology*, 2017, 23(36), s. 6549 – 6570.
108. LUCAS, C., LUCAS, G., LUCAS, N., KRZOWSKA-FIRYCH, J., TOMASIEWICZ, K. A systematic review of the present and future of non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical and experimental hepatology*, 2018, 4(3), s. 165 – 174.
109. TAKAKI, A., KAWAI, D., YAMAMOTO, K. Molecular Mechanisms and New Treatment Strategies for Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH). *International journal of molecular sciences*, 2014, 15(5), s. 7352 – 7379.
110. SOWA, J. P., ATMACA, Ö., KAHRAMAN, A., SCHLATTJAN, M., LINDNER, M., SYDOR, S., SCHERBAUM, N., LACKNER, K., GERKEN, G., HEIDER, D., ARTEEL, G. E., ERIM, Y., CANBAY, A. Non-Invasive Separation of Alcoholic and Non-Alcoholic Liver Disease with Predictive Modeling. *PloS one*, 2014, 9(7).
111. WANG, J., LI, P., JIANG, Z., YANG, Q., MI, Y., LIU, Y., SHI, R., ZHOU, Y., WANG, J., LU, W., LI, S., LIU, D. Diagnostic value of alcoholic liver disease (ALD)/nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) index combined with γ -glutamyl transferase in differentiating ALD and NAFLD. *The Korean journal of internal medicine*, 2016, 31(3), s. 479 – 487.
112. SUEYOSHI, S., SAWAI, S., SATOH, M., SEIMIYA, M., SOGAWA, K., FUKUMURA, A., TSUTSUMI, M., NOMURA, F. Fractionation of gamma-glutamyltransferase in patients with nonalcoholic fatty liver disease and alcoholic liver disease. *World journal of hepatology*, 2016, 8(36), s. 1610 – 1616.
113. TOSHIKUNI, N., TSUTSUMI, M., ARISAWA, T. Clinical differences between alcoholic liver disease and nonalcoholic fatty liver disease. *World journal of gastroenterology*, 2014, 20(26), s. 8393 – 8406.
114. NALBANTOGLU, I., BRUNT, E. M. Role of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World journal of gastroenterology*, 2014, 20(27), s. 9026 – 9037.
115. BUZZETTI, E., PINZANI, M., TSOCHATZIS, E. A. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*, 2016, 65(8), s. 1038 – 1048.

116. ENGIN, A. B., ENGIN, A. *Obesity and Lipotoxicity*. Springer International Publishing AG 2017. ISBN 978-3-319-48382-5.
117. MAYO, R., CRESPO, J., MARTÍNEZ-ARRANZ, I., BANALES, J. M., ARIAS, M., MINCHOLÉ, I., ALLER DE LA FUENTE, R., JIMENEZ-AGÜERO, R., ALONSO, C., DE LUIS, D. A., VITEK, L., STRITESKY, J., CABALLERÍA, J., ROMERO-GÓMEZ, M., MARTÍN-DUCE, A., MUGÜERZA HUGUET, J. M., BUSTEROS-MORAZA, J. I., IDOWU, M. O., CASTRO, A., MARTÍNEZ-CHANTAR, M. L., ORTIZ, P., BRUHA, R., LU, S. C., BEDOSSA, P., NOUREDDIN, M., SANYAL, A. J., MATO, J. M. Metabolomic-based Noninvasive Serum Test to Diagnose Nonalcoholic Steatohepatitis: Results From Discovery and Validation Cohorts. *Hepatology communications*, 2018, 2(7), s. 807 – 820.
118. PERAKAKIS, N., POLYZOS, S. A., YAZDANI, A., SALA-VILA, A., KOUNTOURAS, J., ANASTASILAKIS, A. D., MANTZOROS, C. S. Non-invasive Diagnosis of Non-Alcoholic Steatohepatitis and Fibrosis With the Use of Omics and Supervised Learning: A Proof of Concept Study. *Metabolism*, 2019, 101.