

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Marie Jistrová

Úloha fruktosy v akumulaci tuku v játrech
The role of fructose in hepatic fat accumulation

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Jan Kovář, CSc.

Praha, 2022

Poděkování:

Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Janu Kovářovi, CSc. za trpělivost, vstřícnost, ochotu a odborné rady, které mi v průběhu psaní bakalářské práce věnoval.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 04.07.2022

Podpis _____

Abstrakt

Mezi metabolické poruchy s neustále se zvyšující incidencí patří i tzv. nealkoholové tukové onemocnění jater (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD). Podkladem NAFLD je patologická akumulace tuku v játrech. Významnou roli v jeho patogenezi hraje dle některých autorů nadměrná konzumace fruktosy. Cílem této práce je snaha o interpretaci dosud publikovaných poznatků o vztahu přijímané fruktosy a ukládání tuku v játrech. Nejprve je popsán metabolismus fruktosy s důrazem na rozdíly oproti metabolismu glukosy. Zmíněny jsou významné účinky fruktosy na metabolismus tuků, sacharidů a nukleotidů. Následuje definice pojmu NAFLD, popis jednotlivých stádií a další klinické charakteristiky tohoto onemocnění. V závěrečné části práce jsou shrnuty výsledky studií zabývajících se touto problematikou a na základě nich je diskutována skutečná míra vlivu nadměrné konzumace fruktosy na rozvoj NAFLD. Konzumace i vysokých dávek fruktosy při izokalorické dietě u zdravých lidí díky účinným kompenzačním mechanismům k akumulaci tuku v játrech nevede. Otázka úlohy fruktosy v nárůstu obsahu tuku v játrech při hyperkalorické dietě není dosud zcela vyřešena, nicméně za jeho hlavní příčinu považují nadměrný kalorický příjem jako takový a nikoli účinek samotné fruktosy, resp. jejích metabolitů. U obézních lidí dochází v důsledku přidružených metabolických patologií k výraznějšímu vzestupu obsahu jaterního tuku, a to často i při nižších dávkách fruktosy.

Klíčová slova:

fruktosa, glukosa, mastné kyseliny, triglyceridy, obsah tuku v játrech, nealkoholové tukové onemocnění jater (NAFLD), dieta

Abstract

One of the metabolic disorders with an increasing incidence is non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). NAFLD is characterized by pathological accumulation of fat in the liver. According to some authors, excessive fructose consumption plays an important role in its pathogenesis. The thesis aims to interpret published findings of the relationship between fructose intake and fat deposition in the liver. In the first part the fructose metabolism is described and compared with the glucose metabolism. The other effects of fructose on fat, carbohydrate and nucleotide metabolism are mentioned. This is followed by definition of the term NAFLD, description of various stages and clinical characterization of the disease. In the final part of the thesis the results of studies concerned with the role of excessive fructose consumption in NAFLD development are summarized. Excessive consumption of fructose by healthy subjects during isocaloric diet doesn't result in hepatic fat accumulation due to effective compensatory mechanisms. However, the role of fructose in hypercaloric diet in the increase of hepatic fat content hasn't been definitely explained yet. It seems that excessive caloric intake per se is more important than the effect of fructose or its metabolites. More pronounced rise in hepatic fat content is observed in obese subjects due to associated metabolic pathologies even at lower doses of fructose.

Keywords:

fructose, glucose, fatty acids, triglyceride, hepatic fat content, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), diet

Seznam použitých zkratk

ALT	<i>alaninaminotransferasa</i>
AST	<i>aspartátaminotransferasa</i>
DM	diabetes mellitus
DNL	de-novo lipogeneze
GAP	glyceraldehyd-3-fosfát
GGT	<i>gamaglutamyltransferasa</i>
HFCS	high-fructose corn syrup
IHLIC	intrahepatic lipid content (obsah tuku v játrech)
MK	mastné kyseliny
MRS	magnetic resonance spectroscopy
NAFLD	non-alcoholic fatty liver disease (nealkoholové tukové onemocnění jater)
NEFA	non-esterified fatty acids
NMR	nukleární magnetická rezonance
ROS	reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species)
TG	triglycerid
VLDL	very low-density lipoprotein

Obsah

Úvod.....	1
Základní dráhy metabolismu glukosy	1
Glykolýza	2
Glukoneogeneze	2
Syntéza glykogenu	2
Glykogenolýza.....	3
Pentosafosfátová dráha.....	3
Metabolismus fruktosy	3
Absorpce fruktosy	3
Metabolismus fruktosy v enterocytech.....	4
Metabolismus fruktosy v hepatocytech.....	5
Rozdíly mezi metabolismem fruktosy a glukosy v hepatocytech	5
Signální dráhy aktivované fruktosovými metabolity.....	7
Metabolické efekty zprostředkované fruktosou	8
Vliv fruktosy na de-novo lipogenezi a syntézu TG v hepatocytech.....	8
Vliv fruktosy na triglyceridémii	9
Vliv fruktosy na β -oxidaci mastných kyselin v hepatocytech.....	9
Vliv fruktosy na produkci kyseliny močové	10
Vliv fruktosy na glykolytické enzymy	10
Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD).....	10
Definice NAFLD.....	10
Metody diagnostiky NAFLD.....	12
Prevalence NAFLD	13
Rizikové faktory pro rozvoj NAFLD	13
Patogeneze NAFLD a úloha fruktosy v ní	13
Terapie NAFLD	14
Hepatopatie jako přímý důsledek nadměrné konzumace fruktosy?	14
Závěr.....	17

Úvod

Nealkoholové tukové onemocnění jater (Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) spolu s dalšími metabolickými patologickými stavy (jako jsou obezita, diabetes mellitus 2. typu a další) patří celosvětově k nejrozšířenějším chorobám a jejich incidence neustále stoupá (1). V roce 2019 bylo odhadováno, že NAFLD postihuje celosvětově zhruba jednu miliardu lidí (2). NAFLD je také uváděna jako nejčastější příčina chronického onemocnění jater ve vyspělých zemích (3, 4). Vzhledem k vývoji v posledních desetiletích nic nenasvědčuje tomu, že by se tento trend měl v budoucnu měnit. Naopak se předpokládá, že pacientů s těmito nemocemi bude přibývat čím dál tím rychleji. Tyto choroby sice v počátečních fázích na kvalitu pacientova života vliv většinou nemají, nicméně bez včasné a cílené intervence mohou vést až k život ohrožujícím komplikacím (5-7). NAFLD byla identifikována jako faktor signifikantně zvyšující mortalitu v populaci (6, 8). Mnozí autoři se shodují na tom, že výrazný vliv na tuto skutečnost má nadměrná konzumace monosacharidů (tzv. jednoduchých cukrů), a to zejména fruktosy, ať už v podobě potravin či slazených nápojů (9-11). Spotřeba slazených nápojů celosvětově každým rokem dále stoupá (12). V USA je za jeden z nejvýznamnějších faktorů odpovědných za stoupající incidenci NAFLD považována konzumace tzv. HFCS (high-fructose corn syrup), resp. fruktosa v něm obsažená (13). Proto výzkumu v této oblasti přikládám velký význam. V posledních dekádách se mnoho vědeckých kolektivů touto problematikou intenzivně zabývá. Tato bakalářská práce by měla čtenáře seznámit s metabolismem fruktosy obecně, s rozdíly oproti metabolismu glukosy, charakterizovat onemocnění NAFLD, shrnout dosavadní publikované výsledky studií míry vlivu konzumace fruktosy na akumulaci tuku v játrech, resp. na rozvoj NAFLD, a nastínit s tím související možná budoucí terapeutická zaměření.

Základní dráhy metabolismu glukosy

Úvodním krokem všech metabolických drah je fosforylace glukosy na glukosa-6-fosfát, která brání jejímu transportu pryč z buňky a zároveň umožňuje udržování koncentračního gradientu glukosy mezi oběma stranami cytoplasmatické membrány. Glukosa-6-fosfát může vstupovat do glykolýzy. Přednostní utilizace glukosy periferními tkáněmi je zajištěna výrazně nižší afinitou hepatospecifické *glukokinasy* k substrátu v porovnání s ubikvitní *hexokinasou*. Díky tomu dosahuje *glukokinasová* reakce při normoglykémii nalačno pouze nízkých rychlostí oproti vysoké rychlosti *hexokinasové* reakce. Dále může být glukosa-6-fosfát výchozí látkou pro syntézu glykogenu, hlavní formy zásoby energie v lidských buňkách. Role glykogenu je nezastupitelná zejména ve dvou typech lidských buněk – v hepatocytech a ve svalových buňkách. V případě hepatocytů je účelem udržování fyziologické koncentrace glukosy v krvi pro zajištění dostatečného přísunu tohoto energetického substrátu ke všem tkáním těla. Ve svalových buňkách představuje glykogen rychlý zdroj energie při intenzivní svalové práci ve chvíli, kdy energetické nároky k jejímu zajištění již nestačí být pokryty přímo transportem

glukosy z krve. Proces odbourávání glykogenu zpět na glukosu se nazývá glykogenolýza. Hepatocyty jsou také schopny glukosu z určitých typů substrátu produkovat de-novo v procesu zvaném glukoneogeneze. Ta je nepostradatelná v okamžiku vyčerpání hepatocytárních zásob glykogenu. Glukosa-6-fosfát může také vstupovat do tzv. pentosafosfátové dráhy sloužící k syntéze monosacharidů o různém počtu uhlíků, zejména pentos (klíčová je ribosa především jako součást nukleových kyselin a kofaktorů), a NADPH + H⁺, zdroje atomů vodíku pro redukci substrátů v rámci anabolických drah (14, 15).

Glykolýza

V první fázi dochází postupně k přeměně jedné molekuly glukosy na dvě molekuly glyceralddehyd-3-fosfátu. V průběhu čtyř reakcí této fáze dochází ke spotřebě celkově dvou molekul ATP (jedna molekula ATP je využita pro fosforylaci glukosy na glukosa-6-fosfát, druhá pro fosforylaci fruktosa-6-fosfátu na fruktosa-1,6-bisfosfát). Ve druhé fázi dochází k přeměně dvou molekul glyceralddehyd-3-fosfátu až na dvě molekuly konečného produktu glykolýzy, pyruvátu. V této fázi vznikají substrátovou fosforylací celkem čtyři molekuly ATP (zdrojem jsou dvě molekuly 1,3-bisfosfoglycerátu a dvě molekuly fosfoenolpyruvátu). Celkovým výtěžkem glykolýzy jsou tedy dvě molekuly ATP. Pyruvát posléze za aerobních podmínek prochází oxidativní dekarboxylací (*pyruvátdehydrogenasa*) za vzniku acetyl-CoA. Ten po vstupu do Krebsova cyklu představuje další zdroj energie v podobě GTP (guanosintrifosfátu) či redukováných koenzymů NADH + H⁺ a FADH₂ používaných pro generování elektrochemického gradientu H⁺ iontů pro pohon mitochondriální *ATP synthasy*.

Glukoneogeneze

Výchozími látkami mohou být tzv. glukogenní aminokyseliny (prostřednictvím meziproductů Krebsova cyklu), glycerol uvolňovaný při hydrolytickém štěpení triglyceridů (TG; po jeho fosforylaci a následné oxidaci na glyceralddehyd-3-fosfát), pyruvát, laktát (po jeho oxidaci na pyruvát) a právě fruktosa (cestou glyceralddehyd-3-fosfátu, vzniklého fosforylací glyceralddehydu jakožto jednoho z produktů štěpení fruktosa-1-fosfátu).

Syntéza glykogenu

Syntéza glykogenu probíhá prvotně na proteinu zvaném glykogenin, na jehož –OH skupinu je napojena první molekula aktivované formy glukosových jednotek UDP-glukosa. Následně jsou vždy pomocí $\alpha(1\rightarrow4)$ -O-glykosidické vazby činností enzymu *glykogensynthasa* postupně napojovány další aktivované glukosové jednotky. Tímto způsobem vznikají lineární řetězce glykogenu. Pro vytvoření větvení v molekule glykogenu jsou potřebné *větvící enzymy*, které katalyzují odštěpení oligosacharidového řetězce z konce lineárního úseku a jeho navázání pomocí $\alpha(1\rightarrow6)$ -O-glykosidické vazby na glukosu v místě větvení.

Glykogenolýza

Glykogen je fosforolyticky odbouráván vždy po jedné glukosové jednotce směrem od svých konců prostřednictvím enzymu *glykogenfosforylasa* za uvolnění glukosa-1-fosfátu. V místech větvení zajišťují degradaci glykogenu tzv. *odvětovací enzymy* s aktivitou glukosyltransferasovou (odštěpení řetězce tří glukosových jednotek z bazální části větve a jeho přenos na lineární konec glykogenu) a glukosidasovou (hydrolytické štěpení $\alpha(1\rightarrow6)$ -O-glykosidické vazby na úplné bázi větve za uvolnění molekuly glukosy).

Pentosafosfátová dráha

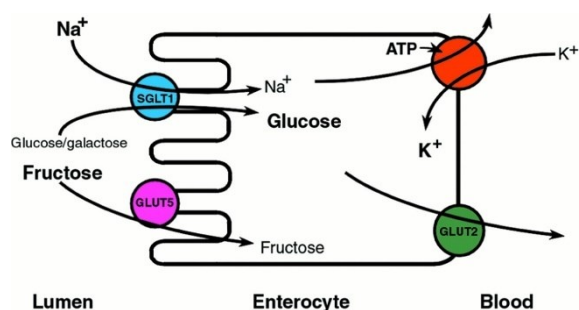
V rámci úvodní oxidační fáze pentosafosfátové dráhy dochází k produkci dvou molekul $\text{NADPH} + \text{H}^+$ (přenosem atomů vodíku na NADP^+ nejprve při oxidaci glukosa-6-fosfátu na 6-fosfoglukono- δ -laktón a poté při oxidativní dekarboxylaci 6-fosfoglukonátu na ribulosa-5-fosfát). Vzniklý ribulosa-5-fosfát je následně buďto isomerován na ribosa-5-fosfát, jenž je využit v syntetické dráze nukleových kyselin, nebo vstupuje do regenerační části dráhy, v níž za účasti *transaldolas* a *transketolas* dochází k přenosům skupin atomů mezi monosacharidy o třech až sedmi atomech uhlíku za účelem regenerace výchozí hexosy.

Metabolismus fruktosy

Ačkoli jsou fruktosa a glukosa strukturně podobné molekuly, prochází odlišnými metabolickými drahami jak v enterocytech, tak v hepatocytech.

Absorpce fruktosy

Fruktosa je absorbována enterocyty v tenkém střevě převážně pomocí GLUT5 transportéru apikální membrány mechanismem facilitované difuze (16).



Obr. č. 1 - Transportní systémy pro monosacharidy v enterocyty

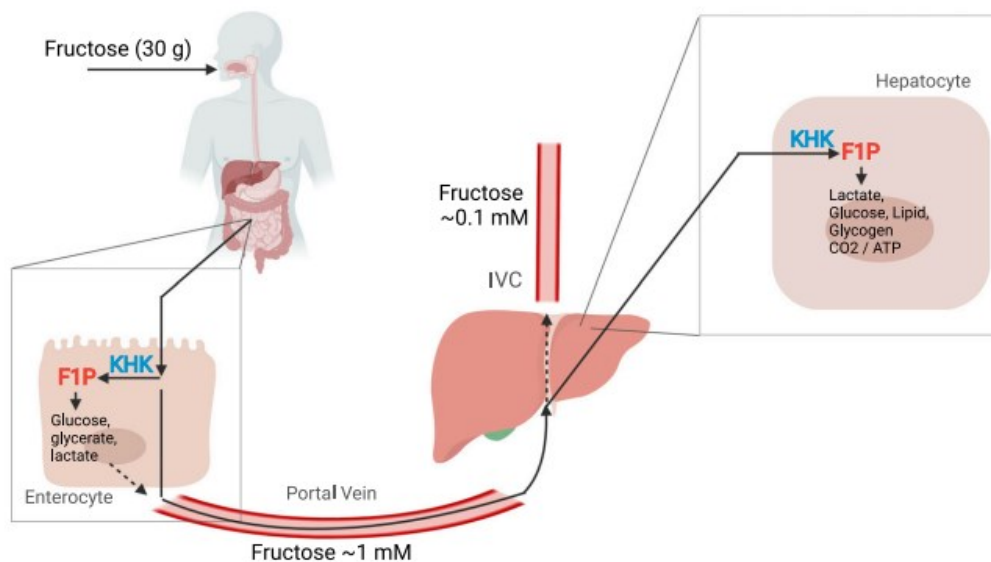
Pro transport fruktosy z lumen tenkého střeva do enterocyty je využíván mechanismus facilitované difuze zprostředkovaný GLUT5 transportérem apikální membrány. Oproti tomu glukosa a galaktosa jsou do enterocyty transportovány prostřednictvím sekundárního transportu s Na^+ ionty (SGLT1 symporter). Všechny uvedené monosacharidy využívají pro svůj transport

z enterocyty do krevního řečiště GLUT2 transportér bazolaterální membrány. Posledním znázorněným transportním systémem je Na^+/K^+ ATPasa, využívající energie hydrolyzy ATP k udržování koncentračních gradientů Na^+ a K^+ iontů mezi oběma stranami membrány, nezbytných mj. pro pohon sekundárních transportérů. Převzato z (17).

Metabolismus fruktosy v enterocytech

Fruktosa resorbovaná do enterocytu je jím částečně metabolizována a její zbylá část je v nezměněné podobě transportována GLUT2 transportérem basolaterální membrány přes subepiteliální prostor do krevního řečiště, konkrétně do některé z větví portální žíly (v. portae) (18). V dnešní době se řada autorů na základě studií na zvířecích modelech přiklání k názoru, že v enterocytech metabolizovaná fruktosa je konvertována na glukosu (prostřednictvím její přeměny na meziprodukty glukoneogeneze) a organické kyseliny (laktát, glycerát). Vysvětlují to tendenci enterocytů vytvářet ochrannou bariéru před transportem nadměrného množství fruktosy do jater, což by po překročení jejich kapacity mělo na hepatocyty škodlivé účinky. Tento mechanismus je plně funkční při fyziologickém příjmu fruktosy, ovšem při její nadměrné konzumaci dochází k jeho saturaci a množství fruktosy přinášené z tenkého střeva do jater signifikantně stoupá (19).

Takto vzniklá glukosa je považována za příčinu byť nízké, ale nezanedbatelné stimulace sekrece inzulinu, která byla ve studiích po příjmu fruktosy pozorována (20).



Obr. č. 2 - Schematické znázornění metabolického zpracování perorálně přijaté fruktosy

Po absorpci fruktosy enterocyty tenkého střeva je jedna její část přeměněna na glukosu (přes intermediáty glukoneogeneze) a organické kyseliny (laktát vzniklý redukcí pyruvátu a glycerát jako defosforylovaný meziprodukt glykolýzy). Zbylá část je enterocyty transportována v nezměněné podobě do krevního řečiště cestou v. portae, kde vyvolá postprandiální vzrůst fruktémie na hodnoty kolem 1 mmol/l. Fruktosa vychytaná hepatocyty z portálního řečiště je metabolizována pomocí fruktolytických enzymů zmiňovaných níže. Její metabolity mohou sloužit k syntéze glykogenu, lipidů a glukosy (glukoneogeneze). Glukosa je buďto za anaerobních podmínek cestou pyruvátu fermentována až na laktát nebo za podmínek aerobních vede prostřednictvím oxidativní dekarboxylace pyruvátu a následného vstupu acetyl-CoA do Krebsova cyklu k produkci CO₂ a nukleosidtrifosfátů (ať už přímo ATP či jiných, na ATP konvertovatelných). Postprandiální koncentrace fruktosy v dolní duté žíle (ICV, inferior vena cava) dosahuje hodnot okolo 0,1 mmol/l. Zkratka KHK značí fruktolytický enzym *ketohexokinasa*, katalyzující fosforylaci fruktosy na fruktosa-1-fosfát (F1P). Převzato z (21).

Metabolismus fruktosy v hepatocytech

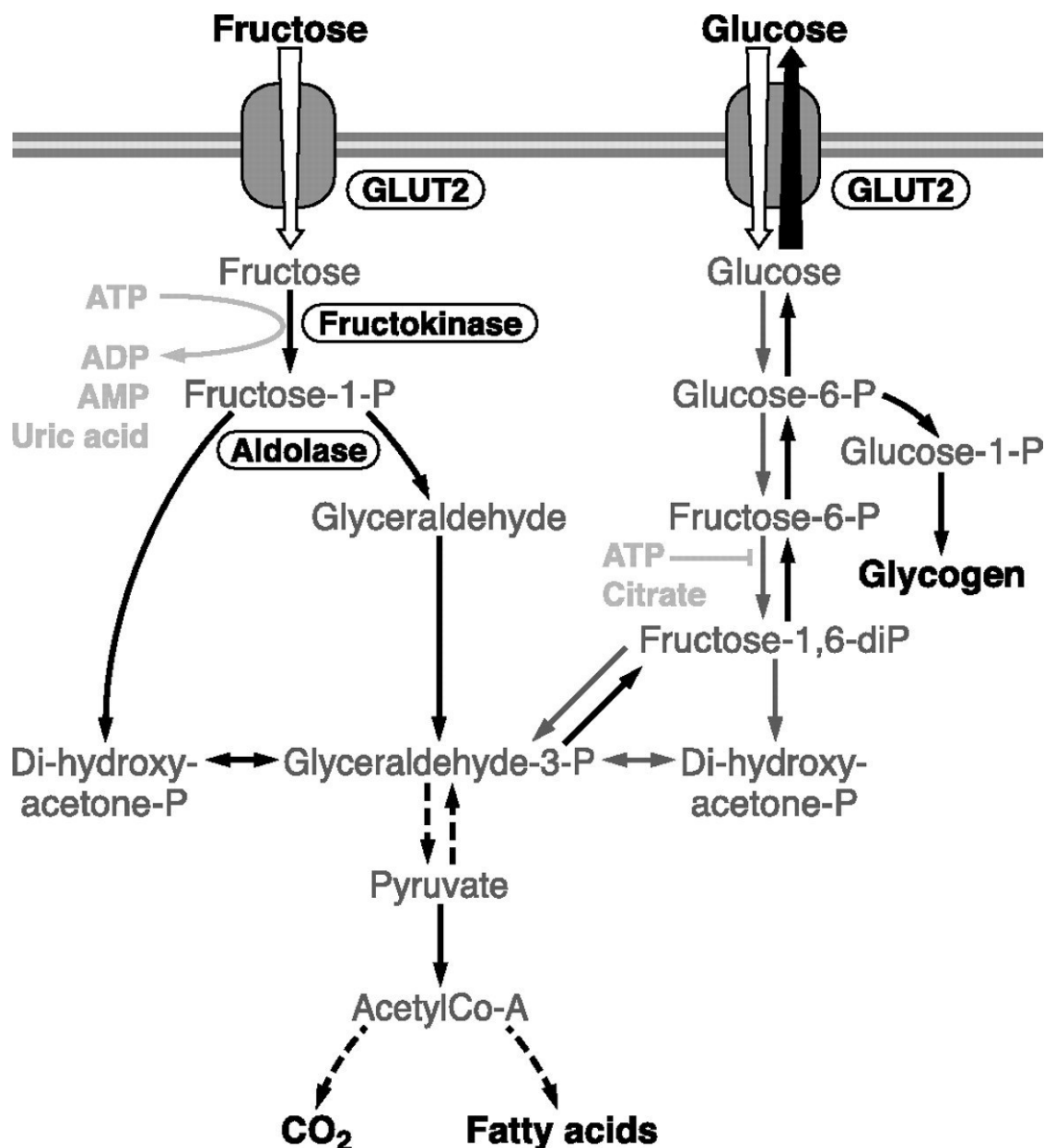
Metabolismus fruktosy v hepatocytech je znázorněn na Obr. č. 3. Z portálního řečiště do hepatocytů je fruktosa transportována prostřednictvím GLUT2 transportéru apikální membrány. Poté je pomocí *fruktokinasy* (*ketohexokinasy*) fosforylována na fruktosa-1-fosfát, který je posléze štěpen *aldolasou B* na dihydroxyacetonfosfát a glycerinaldehyd. Glycerinaldehyd je následně fosforylován za katalýzy *triosakinasy* na glycerinaldehyd-3-fosfát (GAP) (22). Právě GAP je intermediátem klíčovým pro glukoneogenezi i lipogenezi – může být totiž spolu s dihydroxyacetonfosfátem přímo substrátem pro *aldolasu* a vstoupit tak do procesu glukoneogeneze, přičemž takto produkovaná glukosa je dále využita primárně pro doplnění hepatocytárních zásob glykogenu. Druhou možností je její využití k produkci acetyl-CoA (cestou glykolýzy a následné oxidativní dekarboxylace pyruvátu), který je substrátem mj. pro syntézu mastných kyselin (MK), tj. de-novo lipogenezi (DNL). Bylo ovšem demonstrováno, že do molekul TG, syntetizovaných z de-novo vzniklých MK, je tímto způsobem zabudována pouze malá část atomů uhlíku pocházejících z fruktosy (23).

Druhým zdrojem fruktosy pro hepatocyty je endogenní produkce, která probíhá tzv. polyolovou cestou. Dosud byl její průběh prokázán v buňkách jater a některých dalších tkání lidského těla (mozku, ledvin a dalších). Glukosa je nejprve pomocí *aldosareduktasy* redukována na sorbitol, který je následně pomocí *sorbitoldehydrogenasy* oxidován na fruktosu (24).

Rozdíly mezi metabolismem fruktosy a glukosy v hepatocytech

Zatímco většina tenkým střevem resorbovaného množství glukosy je z cirkulace vycytána mimojaterními tkáněmi, 80 – 90 % celkového množství resorbované fruktosy vycytají v rámci tzv. first-pass efektu hepatocyty. Důsledkem toho je, že celková koncentrace fruktosy v krvi je i postprandiálně řádově nižší (kolem 0,5 mmol/l) než je tomu u glukosy (8 – 10 mmol/l), která je játry vycytána pouze z 15 – 25 % (25). Fyziologická koncentrace fruktosy v krvi nalačno se u zdravých jedinců pohybuje v rozmezí 10 – 70 $\mu\text{mol/l}$, přičemž u diabetiků dosahuje signifikantně vyšších hodnot (26). Fyziologická glykémie nalačno má hodnoty přibližně 4 – 6 mmol/l.

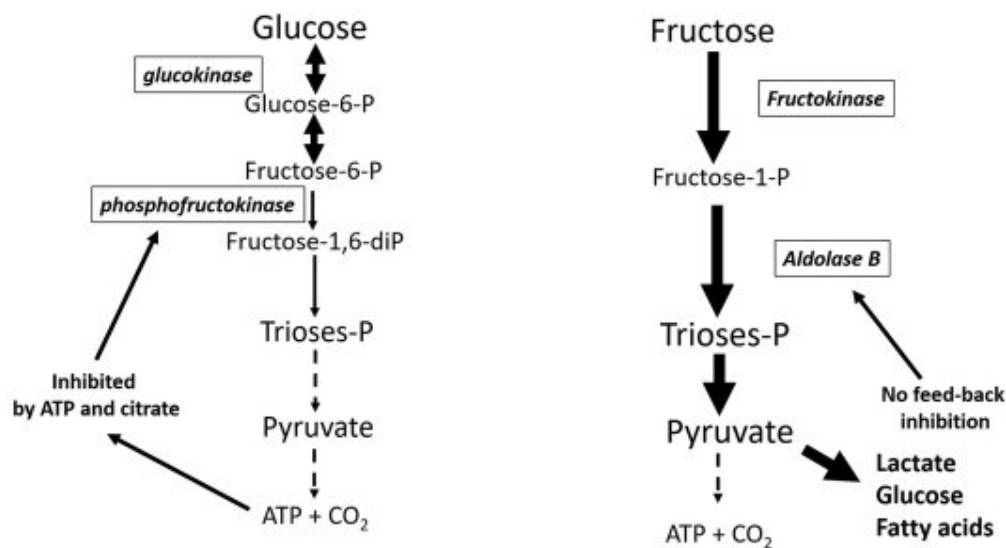
Fruktosa vyvolává jen nepatrné zvýšení sekrece inzulínu β -buňkami Langerhansových ostrůvků pankreatu oproti výraznému postprandiálnímu vzrůstu sekrece inzulínu následujícím po příjmu glukosy (20, 27). Příčinou stimulace inzulínové sekrece je s největší pravděpodobností schopnost zejména enterocytů, ale i hepatocytů konvertovat absorbovanou fruktosu na glukosu prostřednictvím její přeměny na meziproducty glukoneogeneze (viz Metabolismus fruktosy v enterocytech) (19).



Obr. č. 3 - Metabolismus fruktosy a glukosy v hepatocytu

Fruktosa je do hepatocytů transportována pomocí GLUT 2 transporéru. Reakce fruktolýzy zahrnují fosforylaci fruktosy na fruktosa-1-fosfát (*fruktokinasa*) a jeho štěpení na dihydroxyacetonfosfát a glyceraldehyd (*aldolasa B*). Ústřední molekulou metabolismu fruktosy je glyceraldehyd-3-fosfát (GAP), který vzniká buď fosforylací glyceraldehydu (*triosakinasa*) nebo isomerací dihydroxyacetonfosfátu (*triosafosfátisomerasa*). GAP může vstupovat do glykolýzy, jejíž výsledkem je pyruvát, který je za aerobních podmínek dekarboxylován na acetyl-CoA. Acetyl-CoA může vstupovat do Krebsova cyklu, kde jsou atomy uhlíku uvolňovány v podobě molekul CO₂, nebo je využit jako substrát pro syntézu MK (fatty acids). GAP je společně s dihydroxyacetonfosfátem také jednou z výchozích látek pro glukoneogenezi. Takto produkovaná glukosa je buďto transportována do krevního řečiště v rámci udržení fyziologické glykémie nebo je cestou izomerace z glukosa-6-fosfátu na glukosa-1-fosfát (*fosfoglukomutasa*) a následně přeměny na aktivovanou formu UDP-glukosu využita pro syntézu zásobního glykogenu. Kyselina močová, koncový produkt degradace purinových bází, ve zvýšené míře vzniká v důsledku intenzivního štěpení ATP, využívaného jako zdroj fosfátové skupiny při *fruktokinasové* reakci. Převzato z (28).

Klíčovou roli hraje skutečnost, že v metabolismu fruktosy, na rozdíl od metabolismu glukosy, chybí zpětnovazební regulační krok. V případě glukosy je jím allosterická inhibice *fosfofruktokinasy*, klíčového regulačního enzymu glykolýzy, prostřednictvím ATP (signál dostatku energetických zásob v buňce) a citrátu (signál dostatku stavebních jednotek v buňce) (29). To má, vzhledem ke konvergenci metabolických drah fruktosy a glukosy, za následek neustálý přísun acetyl-CoA, jakožto konečného produktu oxidativní dekarboxylace pyruvátu, vzniklého přeměnou fruktolytického produktu glycerinaldehyd-3-fosfátu. Takto ve velkém množství vznikající acetyl-CoA poté slouží mj. jako výchozí látka pro syntézu MK a následně triglyceridů (23).

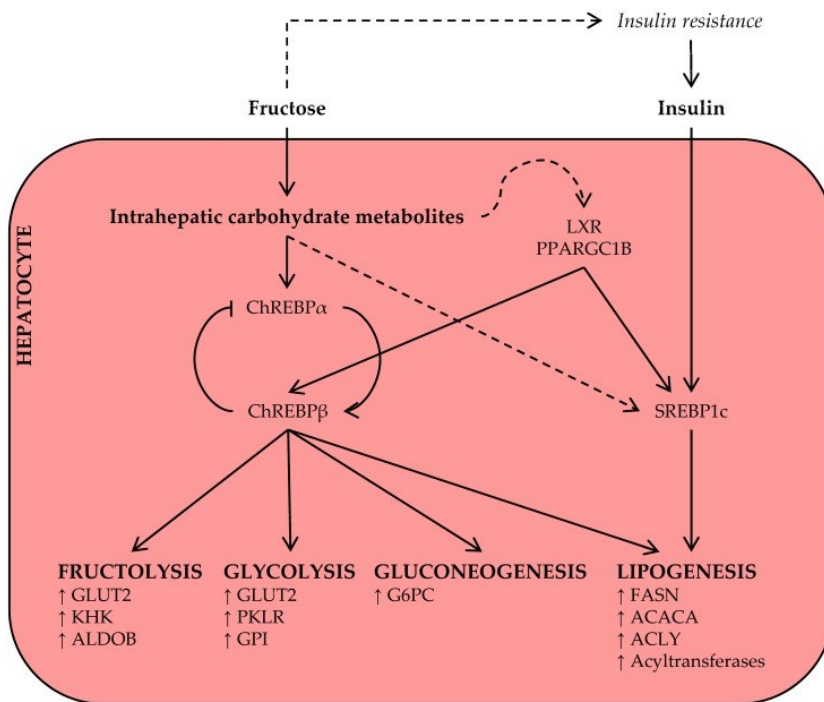


Obr. č. 4 - Zpětnovazební mechanismy v metabolismu glukosy a fruktosy

Schematické znázornění průběhu glykolýzy a fruktolýzy. Klíčovým regulačním enzymem glykolýzy je *fosfofruktokinasa*, katalyzující fosforylaci fruktosa-6-fosfátu na fruktosa-1,6-bisfosfát. Je zpětnovazebně allostericky inhibována prostřednictvím ATP (signál dostatku energetických zásob v buňce) a citrátu (signál dostatku buněčných stavebních jednotek). V případě fruktolýzy zpětnovazební inhibice chybí, což vede k intenzivní produkci dihydroxyacetonfosfátu a glycerinaldehyd-3-fosfátu (ve schématu souhrnně označeny jako Trioses-P). Ty jsou dále přeměňovány na pyruvát, jenž může být zdrojem produkce laktátu (*laktátdehydrogenasa*), glukosy (cestou glukoneogeneze) a MK (cestou jejich syntézy z acetyl-CoA vzniklého oxidativní dekarboxylací pyruvátu (*pyruvátdehydrogenasa*)). Acetyl-CoA může také vstupovat do Krebsova cyklu, kde dochází k uvolňování atomů uhlíku v podobě CO₂ a spolu s následnou mitochondriální oxidativní fosforylací k produkci ATP. Převzato z (25).

Signální dráhy aktivované fruktosovými metabolity

Fruktosa neslouží pouze jako zdroj energie či stavebních jednotek pro anabolické procesy, ale její metabolické intermediáty aktivují specifické transkripční faktory, prostřednictvím nichž ovlivňují expresi celé řady genů. Konkrétně se uplatňují v signalizaci přes Carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) a Sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c). Jedná se o transaktivátory genů vedoucí ke stimulaci fruktolýzy, glykolýzy, glukoneogeneze a lipogeneze (30-33).



Obr. č. 5 - Fruktosovými metabolity aktivované transkripční faktory ChREBP a SREBP-1c a jejich cílové geny

Metabolické intermediáty fruktosy aktivují a zvyšují expresi transkripčního faktoru ChREBP. Ten je translokován do jádra, kde se zvýšeně váže na ChRE (Carbohydrate response element) příslušných genů účastnících se fruktolýzy, glykolýzy, glukoneogeneze a lipogeneze. V dolní části obrázku jsou znázorněny konkrétní produkty tímto způsobem zvýšeně exprimovaných genů. Jedná se o geny pro GLUT2 transportér apikální membrány (GLUT2), fruktolytické enzymy (*ketohexokinasa* (KHK), *aldolasa B* (ALDOB)), glykolytické enzymy (*pyruvátkinasa* (PKLR), *glukosafosfátisomerasa* (GPI)), enzymy glukoneogeneze (*glukosa-6-fosfatasa* (G6PC)) a lipogenní enzymy (*synthasa mastných kyselin* (*fatty acid synthase*, FASN), *acetyl-CoA-karboxylasa* (ACACA), *ATPcitrátlyasa* (ACLY) a *karnitinacyltransferasa I a II* (Acyltransferases)). Expresie uvedených lipogenních genů je dále zvyšována prostřednictvím transkripčního faktoru SREBP-1c. Převzato z (34).

Metabolické efekty zprostředkované fruktosou

Na základě experimentů na zvířecích modelech je nadměrnému příjmu fruktosy přisuzován výrazný vliv na rozvoj NAFLD, kardiovaskulárních chorob a dalších patologických stavů. Pravděpodobnými mechanismy se zdají být akcelerovaná de-novo lipogeneze (35), útlum β -oxidace (36), navození hypertriglyceridémie (37) a hyperurikémie (38). Do jaké míry se tyto metabolické efekty uplatňují u lidí, dokládají výsledky klinických studií diskutovaných dále v textu.

Vliv fruktosy na de-novo lipogenezi a syntézu TG v hepatocytech

Řada autorů se přiklání k názoru, že fruktosa, resp. její metabolity, mají signifikantní vliv na akceleraci DNL (39). Při zvýšeném příjmu fruktosy dochází k výrazné stimulaci exprese genů účastnících se lipogeneze. Syntéza MK je dále podporována vysokou nabídkou acetyl-CoA, jež je následkem rychlého a zpětnově neregulovaného metabolismu přijímané fruktosy (23).

Nežádoucí účinky hromadících se MK hepatocyty minimalizují akcelerací syntézy TG. U pacientů s NAFLD představují de-novo vzniklé MK 25 % celkového množství MK pro syntézu TG v hepatocytech. Druhým z jejich zdrojů jsou plasmatické mastné kyseliny (non-esterified fatty acids, NEFA) uvolněné lipolýzou z tukové tkáně, které představují většinu (60 %) MK pro syntézu TG (40). Po podání fruktosy dochází ke snížení plasmatické koncentrace NEFA v důsledku antilipolytického působení jejího dosud nespecifikovaného metabolitu na tukovou tkáň (41), nicméně po několika hodinách se jejich plasmatické koncentrace vrací k výchozím hodnotám (20). Zdrojem zbylých 15 % MK pro syntézu TG u pacientů s NAFLD je dieta (40).

J.-M. Schwarz *et al.* ve své studii z roku 2015 po dobu 18 dní v pravidelných intervalech sledoval úroveň DNL pomocí analýzy zastoupení radioizotopem značeného uhlíku v molekulách palmitátu, a obsah tuku v játrech (intrahepatic lipid content, IHLC) pomocí ¹H MRS u zdravých mužů. U čtyř z nich sledoval vliv přechodu z isokalorické diety (35 % celkového energetického příjmu představovaly tuky, 15 % proteiny a zbylých 50 % sacharidy) zahrnující komplexní sacharidy (z nichž fruktosa představovala pouze 5 % celkového energetického příjmu) na isokalorickou dietu bohatou na fruktosu (ta představovala 25 % celkového energetického příjmu). U dalších čtyř mužů sledoval vliv přechodu mezi těmito druhy stravy opačným směrem. V průběhu období příjmu na fruktosu bohaté diety došlo u všech mužů k významnému nárůstu intenzity DNL, a to bez ohledu na pořadí, v jakém byly oba druhy diet podávány (42).

Vliv fruktosy na triglyceridémii

Konzumace fruktosy vyvolává postprandiální zvýšení triglyceridémie (koncentrace TG v krvi) (27, 42-44). Příčinou může být obecně buď zvýšená sekrece částic VLDL (very low-density lipoproteins) hepatocyty nebo jejich snížená clearance. Na akcelerovanou DNL a zvýšený influx MK mobilizovaných z tukové tkáně reagují hepatocyty jejich zvýšeným efluxem, a to v podobě produkce VLDL lipoproteinů větší velikosti s vyšším obsahem TG spíše než produkcí jejich většího množství (45). Druhým z uvažovaných mechanismů je nedostatečná stimulace *lipoproteinové lipasy* endotelu periferních kapilár, která je vysvětlována nízkou inzulinovou odpovědí na příjem fruktosy (viz výše) (46). *Lipoproteinová lipasa* katalyzuje odštěpování MK z TG obsažených v plasmatických VLDL lipoproteinech (47).

Vliv fruktosy na β -oxidaci mastných kyselin v hepatocytech

Na rozdíl od glukosy inhibuje fruktosa β -oxidaci mastných kyselin (9). To má za následek větší dostupnost volných MK pro DNL a tím k ukládání tuku v játrech dále přispívá (48). Jako možné mechanismy jsou uváděny snížení exprese genů účastnících se β -oxidace prostřednictvím fruktosovými metabolity aktivovaného transkripčního faktoru PPAR α (31) a poškozování mitochondrií indukovanými reaktivními formami kyslíku (reactive oxygen species, ROS) (49). Signifikantní pokles úrovně β -oxidace po příjmu fruktosy byl potvrzen kolektivem J.-M. Schwarze metodou nepřímé kalorimetrie (42).

Vliv fruktosy na produkci kyseliny močové

G. van den Berghe *et al.* vysvětlují skokové zvýšení plasmatické koncentrace kyseliny močové po příjmu fruktosy tím, že spotřeba ATP *fruktokinasou* (*ketoheksokinasou*) vede k jeho rychlé depleci a s ní související deplecí GTP (guanointrifosfátu). Průvodním jevem je růst koncentrace nukleosidmonofosfátů, především AMP (adenosinmonofosfátu). P_i a GTP fungují jako inhibitory enzymu *AMP deaminasa*, katalyzujícího deaminaci AMP na inosinmonofosfát (IMP), který je posléze defosforylován na inosin. Z molekuly inosinu je poté hydrolyticky odštěpen ribosa-1-fosfát za vzniku hypoxantinu, který je oxidován až na konečný degradační produkt purinových bází, kyselinu močovou. Absence inhibice, resp. stimulace, *AMP deaminasy* tedy vede k nadprodukcí kyseliny močové, což se projeví její zvýšenou koncentrací v krvi, tedy hyperurikémií (38, 50).

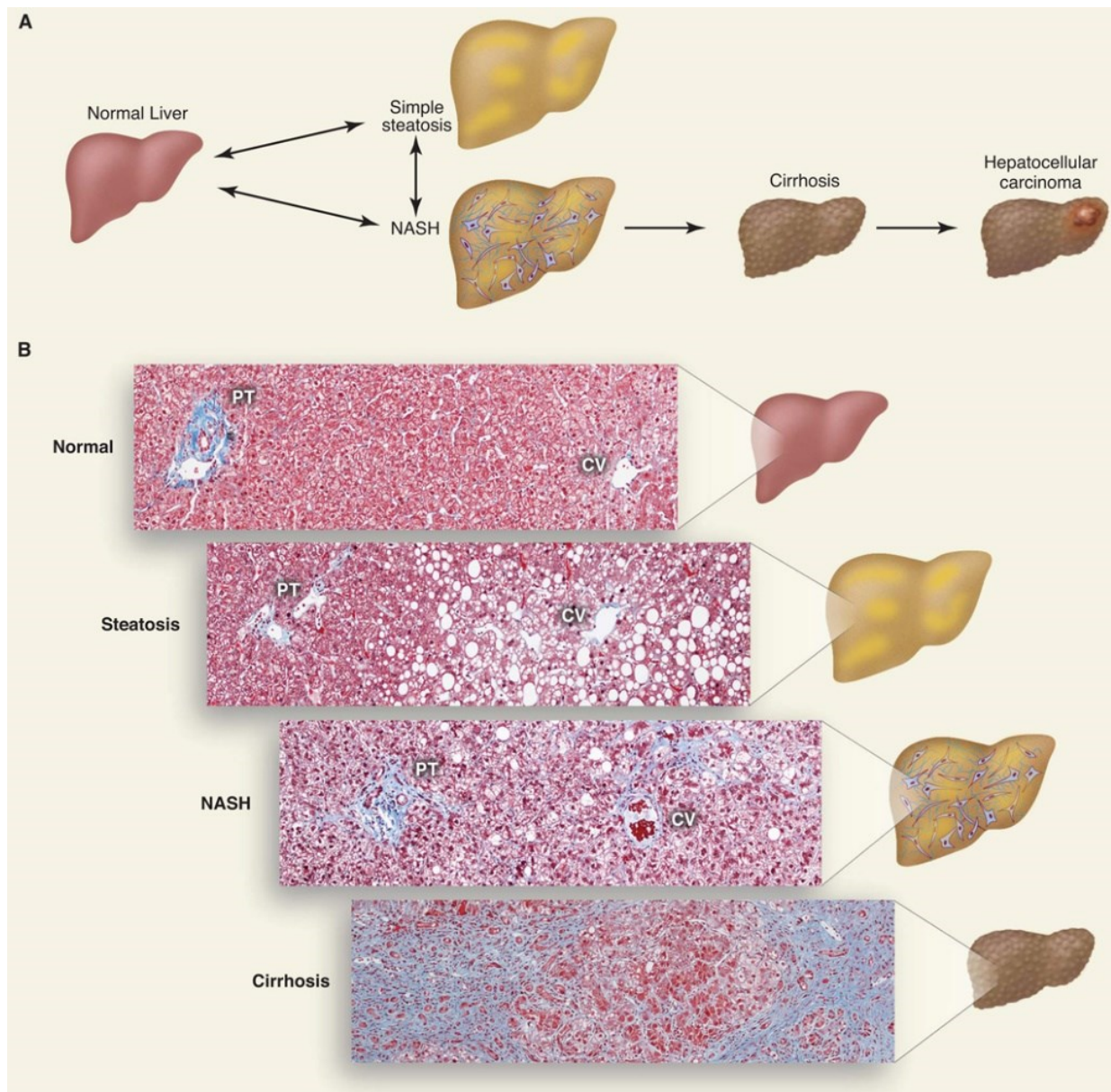
Vliv fruktosy na glykolytické enzymy

Prokázán byl také přímý vliv metabolitů fruktosy na meziproducty glukosového metabolismu, a to konkrétně stimulace jaterní *glukokinasy* prostřednictvím fruktosa-1-fosfátu (51). Ten interaguje s jaderným komplexem GCKR-*glukokinasa* (Glucokinase regulatory protein), *glukokinasa* je z komplexu uvolněna a posléze translokována do cytoplasmy, kde katalyzuje příslušnou reakci (52).

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)

Definice NAFLD

Pojmem Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) je označováno několik stádií jaterní patologie od prosté akumulace tuku v játrech, přes steatohepatitidu až k cirhóze. Obecně je NAFLD patologický stav jater definovaný přítomností steatózy u více než 5 % hepatocytů při současné žádné či nízké konzumaci alkoholu a absenci vlivu hepatotoxických léčiv, virové etiologie či jiných specifických sekundárních příčin (53). Mezi NAFLD jsou řazeny mírná benigní forma, tzv. NAFL (non-alcoholic fatty liver), která se vyznačuje absencí hepatocytárního poškození a fibrózy, a závažnější forma, tzv. NASH (non-alcoholic steatohepatitis), která je definována poškozením hepatocytů (při histologickém vyšetření zjevném jako tzv. „ballooning“) a přítomností chronického zánětu, buď s nebo bez současných známek fibrózy (7). Ze stádia NAFL dochází k rozvoji závažnějších stavů pouze v nízkém procentu případů. Ovšem stádium NASH progreduje až do stádia jaterní cirhózy a s ní souvisejícího jaterního selhání relativně často, a vzácně je spojováno i s rozvojem hepatocelulárního karcinomu (53-55).



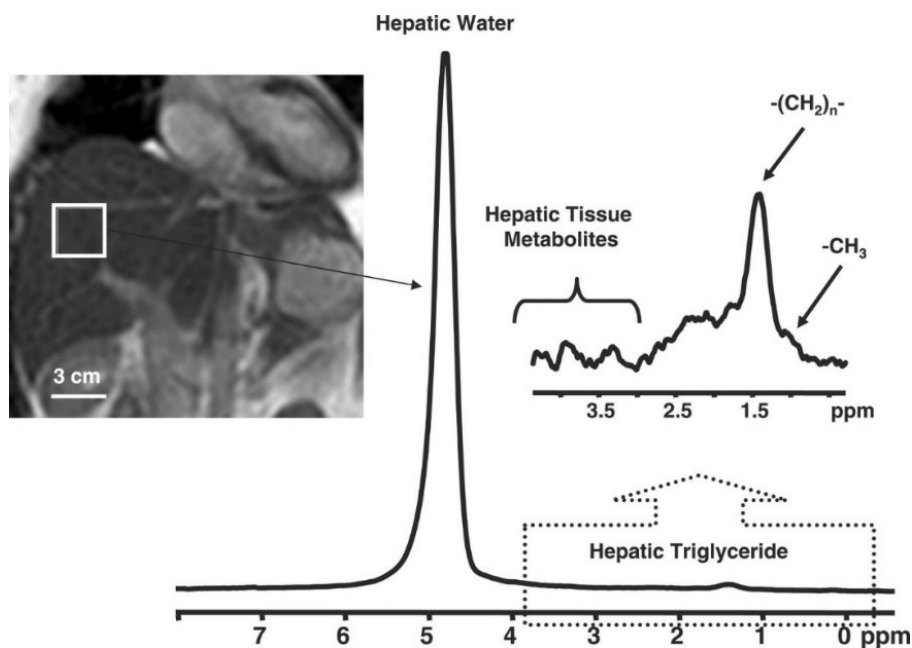
Obr. č. 6 - Stádia NAFLD

(A) Schematické znázornění progresu NAFLD a klinických manifestací jednotlivých stádií. Prostá steatóza, tj. stádium NAFL (non-alcoholic fatty liver), charakterizovaná pouze akumulací TG v podobě tukových kapének v hepatocytech. Stádium NASH (non-alcoholic steatohepatitis), charakterizované již probíhajícím chronickým zánětem a na jeho podkladě vzniklým poškozením hepatocytů, ev. přítomností známek fibrózy. NASH může progredovat až do stádia jaterní cirhózy, zahrnující úplnou destrukci jaterního parenchymu vlivem fibrotizačních procesů. Onkologickou komplikací, zvýšeně se vyskytující v prostředí cirhotických změn, je rozvoj hepatocelulárního karcinomu.

(B) Histologické nálezy příslušející fyziologickému nálezu jater a jednotlivým stádiím jaterního poškození na podkladě NAFLD. NAFL (Steatosis) je typická akumulací tukových kapének v cytoplazmě hepatocytů. NASH zahrnuje známky hepatocytárního poškození až jejich nekrózu, zánětlivé změny a přítomnost kolagenních vláken (na histologickém řezu znázorněny modrou barvou). Cirhotická játra zahrnují již masivní destrukci jaterního parenchymu a četné fibrotické změny. Písmeno PT je označena portální trias portobiliárního prostoru (větev v. portae, a. hepatica propria a žlučovodu), zkratka CV označuje centrální žílu (central vein). Převzato z (56).

Metody diagnostiky NAFLD

Rutinními metodami diagnostiky NAFLD jsou sonografické vyšetření jater a stanovení koncentrace jaterních enzymů (ALT, AST, GGT) v krvi. Nicméně nález na ultrazvuku jater je často patrný až při pokročilém stádiu steatózy a navíc může být u obézních pacientů či pacientů s nadváhou problematické samotné jeho provedení. Vzestup koncentrace jaterních enzymů je značně nespecifický. Relativně často je NAFLD diagnostikována jako vedlejší nález při indikaci těchto vyšetření z jiných příčin (57). Zlatým standardem neinvazivních metod diagnostiky jaterní steatózy je MRS (magnetic resonance spectroscopy), tedy nukleární magnetická rezonanční spektroskopie využívající principu magnetické rezonance (58). Je používána zejména pro vědecké účely, v praxi vzhledem k finanční náročnosti vyšetření a nižší přístrojové vybavenosti nemocničních zařízení málokdy (57). Jedná se o metodu citlivou, nicméně možnosti této metody jsou vzhledem k neinvazivitě limitované, a proto se pro potvrzení podezření na pokročilé stádium NAFLD (NASH a progresivnější formy NAFLD) využívá jaterní biopsie s histologickým vyšetřením bioptované tkáně (53).



Obr. č. 7 - Použití metody MRS pro stanovení IHLC

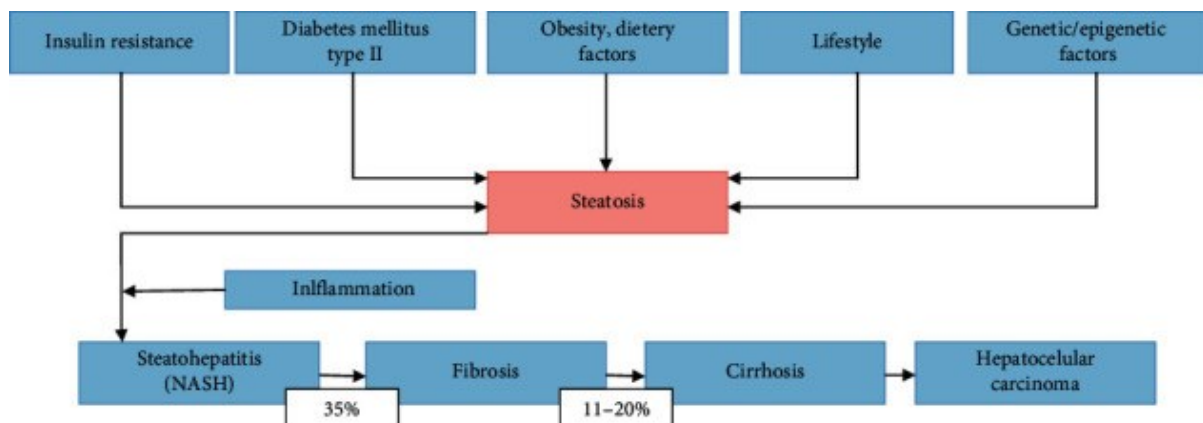
Nalevo detail koronárního řezu horní části břicha, získaného metodou nukleární magnetické rezonance (NMR) se čtvercem označujícím sledovanou oblast pro stanovení IHLC pomocí ¹H MRS (proton magnetic resonance spectroscopy). Uprostřed výřez ¹H MR spektra vyšetřované oblasti. Osa x znázorňuje míru chemického posunu detekovaných skupin sloučenin v jednotkách ppm (parts per million, miliontiny rezonanční frekvence), osa y odpovídá kvantitě získaného signálu. Nejvyšší peak, nacházející se poblíž hodnoty 5 ppm, odpovídá molekulám vody, oblast mezi hodnotami zhruba 3,5 až 0 ppm, vyznačená tečkovaným rámečkem, odpovídá stanovovaným triglyceridům. Vpravo nahoře detail spektra v oblasti odpovídající molekulám triglyceridů, resp. přítomným funkčním skupinám v řetězcích MK, jež jsou jejich součástí. Nejvyšší peak, odpovídající posunu zhruba 1,5 ppm, znázorňuje detekované atomy vodíku přítomné v podobě methylenových skupin -(CH₂)_n-, šipka vpravo označuje oblast detekce atomů vodíku přítomných v podobě methylových skupin -CH₃ v oblasti kolem 1 ppm. Převzato z (58).

Prevalence NAFLD

Z. M. Younossi *et al.* na základě rozsáhlé meta-analýzy z roku 2016, zahrnující přes sedm set studií s více než osm a půl milionem probandů, stanovil celosvětovou prevalenci NAFLD na zhruba 25 %, pro Evropu prevalence dosahovala hodnoty necelých 24 % (59). Na základě výsledků studie čítající celkem 2 287 mužů a žen, zahrnuté do tzv. Dallas Heart Study z roku 2004, byla jaterní steatóza, stanovovaná metodou MRS, přítomna u téměř 31 % z celkového počtu zúčastněných pacientů, což by po adekvátních přepočtech mělo odpovídat prevalenci přes 33 % u obyvatel státu Dallas (60).

Rizikové faktory pro rozvoj NAFLD

Hlavními rizikovými faktory pro rozvoj NAFLD jsou obezita a DM 2. typu (resp. insulinová rezistence), a dále přítomnost obou těchto patologických stavů spolu s dalšími (dyslipidémie, arteriální hypertenze) v rámci tzv. metabolického syndromu (7, 45, 61). V posledních letech se objevují názory, že NAFLD je jaterním projevem metabolického syndromu a na základě toho byla relativně nedávno zavedena nová diagnostická jednotka MAFLD (Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease) (62). Existují také studie, které identifikovaly alely konkrétních genů (zejména genů *PNPLA3* a *TM6SF2*), které se, vzhledem k jejich roli v metabolismu a transportu MK a TG v hepatocytech, jeví jako pro rozvoj NAFLD predisponující. (63-66).



Obr. č. 8 - Patogeneze NAFLD a rizikové faktory

Mezi faktory zvyšující riziko rozvoje jaterní steatózy (NAFL) patří insulinová rezistence, DM 2. typu, obezita, obecně životní styl tyto metabolické poruchy podporující, a genetické a epigenetické faktory (viz výše). Ve spodní části obrázku je znázorněna cesta progresu steatózy (NAFL) přes stádium steatohepatitidy (NASH), jaterní fibrózy, cirhózy až k hepatocelulárnímu karcinomu. Čísla v rámečku udávají podíl pacientů, u kterých dochází k progresi do dalšího stádia. Převzato z (67).

Patogeneze NAFLD a úloha fruktosy v ní

Játra jsou klíčovým orgánem pro zpracování v potravě přijímané fruktosy. Vzhledem k tomu, že hepatocyty vylučují přes čtyři pětiny z tenkého střeva absorbovaného množství fruktosy (25), jsou játra orgánem nejvíce postiženým nadměrnou konzumací fruktosy. V důsledku akcelerace DNL, dále umocněné absencí zpětnovazebného regulačního mechanismu, dochází k intenzivní produkci triglyceridů. Ty se po překročení kapacity produkovaných VLDL lipoproteinových částic ukládají

ve formě tukových kapének v cytoplasmě hepatocytů (steatóza), což vede k rozvoji hepatomegalie. Následkem může být progresse do stádia NASH, kdy dojde ke spuštění zánětlivé reakce, vedoucí k postupnému poškozování funkce hepatocytů, jež může v určitém stádiu vést až k jejich nekróze. Mechanismy rozvoje NASH dosud nebyly zcela objasněny. Roli v něm pravděpodobně hrají toxické účinky v hepatocytech se hromadících MK a lipidových intermediátů (68), nicméně se zdá, že tato problematika je mnohem komplexnější a pravděpodobně se v rozvoji NASH uplatňují různé kombinace spouštěcích mechanismů (69). Organismus ve snaze zachování integrity tkáně reaguje tendencí nahradit zaniklé buňky vazivem prostřednictvím aktivace fibroblastů a stimulace jejich produkce mezibuněčné hmoty (3). Takto rozvinuvší se jaterní fibróza může progredovat až do nejzávažnějšího stádia neonkologické jaterní patologie, a to jaterní cirhózy, která je již předstupněm celkového jaterního selhání (5, 55). Nejenže stádium cirhózy není konzervativně léčitelné a jediným možným dlouhodobějším řešením je transplantace jater, ale v jejím prostředí, v důsledku chronické aktivace fibrotizačních procesů, existuje zvýšené riziko rozvoje nádorového procesu, zejména hepatocelulárního karcinomu (4, 55).

Terapie NAFLD

Nejdůležitějším a relativně nejsnazším, ovšem zároveň i nejméně tolerovaným, terapeutickým zásahem při rozvoji NAFLD je redukce tělesné hmotnosti podmíněná úpravou stravování a pravidelnou tělesnou aktivitou. S vidinou pozitivních terapeutických výsledků byly zkoušeny různé přípravky a intervence, jako jsou perorální antidiabetika ze skupiny thiazolidindionů a analogů GLP-1 (glukagon-like peptidu-1), bariatrické operace či potravinové doplňky s vitamínem E (7), nicméně u pacientů, léčených těmito metodami, nebyly léčebné účinky zcela jednoznačné. Došlo-li ke snížení IHLC, příčinou byla redukce tělesné hmotnosti jako takové a nikoli přímý účinek na játra. Pro léčbu NAFLD nebyl dosud v ČR žádný preparát schválen (57).

Hepatopatie jako přímý důsledek nadměrné konzumace fruktosy?

Hlavní otázkou je, zda se zmiňované jaterní patologie objevují v důsledku přímého vlivu přijímaných monosacharidů, speciálně fruktosy, anebo vznikají jako sekundární komplikace nárůstu hmotnosti. Většina pacientů s NAFLD je totiž charakterizována stálým nadměrným energetickým příjmem v kombinaci s nedostatečnou pohybovou aktivitou a trpí proto nadváhou či častěji obezitou (66).

Existují studie, jejichž autoři se na základě naměřených výsledků přiklání k hypotéze, že konzumovaná fruktosa má na zvýšení IHLC signifikantní vliv. Nicméně v některých z těchto případů nelze vzhledem k hyperkalorickému designu daných studií vliv obecně nadměrného energetického příjmu odfiltrout.

V. Lecoultre *et al.* podávali ve své studii 55 zdravým mužům po dobu sedmi dnů fruktosu (v dávce 1,5/3/4 g/kg tělesné hmotnosti), glukosu v dávce 3 g/kg nebo na tuk bohatou dietu (+ 30 % celkového

energetického příjmu). Intervence vždy následovala po kontrolní sedmidenní periodě isokalorické diety. U skupin s podávanou fruktosou v dávkách 3 g/kg a 4 g/kg došlo téměř ke zdvojnásobení IHLC, k o něco málo nižšímu nárůstu došlo u skupiny s podávaným tukem a ke vzestupu o zhruba 60 % u skupiny s podávanou glukosou, zatímco v případě konzumace 1,5 g fruktosy signifikantní změna IHLC zaznamenána nebyla. Tyto výsledky napovídají, že nárůst IHLC je následkem spíše obecně nadměrného energetického příjmu než specifickým efektem metabolického zpracování fruktosy (70).

Studie E. T. Ngo Sock *et al.* porovnávala u jedenácti zdravých mužů vliv sedmidenní hyperkalorické diety bohaté na fruktosu nebo glukosu (s denní dávkou 3,5 g/kg tělesné hmotnosti) s kontrolní isokalorickou dietou. Během konzumace obou typů hyperkalorické stravy došlo k nárůstu IHLC a tělesné hmotnosti mezi oběma skupinami srovnatelnému (71). Autoři se i s ohledem na výsledky jejich předešlé studie, kdy k výraznému nárůstu IHLC došlo i v důsledku podávání hyperkalorické diety bohaté na tuky (72), přiklání k hypotéze, že depozice tuku v játrech je také důsledkem spíše nadměrného energetického příjmu.

H. Sobrecases *et al.* na třiceti zdravých mužích porovnávali vliv sedmidenního podávání na fruktosu bohaté diety (3,5 g fruktosy/kg/den) se čtyřdenním podáváním na tuky bohaté diety (+ 30 % celkového energetického příjmu) nebo kombinace obojího s kontrolní sedmidenní isokalorickou dietou. K signifikantnímu nárůstu IHLC bez významné změny tělesné hmotnosti došlo u zástupců všech tří hyperkalorických skupin – u fruktosové skupiny o 16 %, u vysokotukové o 86 % a u kombinované o 133 %. Rozdíly v míře nárůstu IHLC si autoři vysvětlují odlišnými mechanismy, které se k jeho dosažení uplatňují. V případě vysokofruktosové diety se výrazně uplatňuje akcelerace DNL, v případě vysokotukové diety účinek přisuzují nadměrnému přísunu TG z diety do jater, přičemž tyto efekty se v případě kombinované diety sčítají. Podle autorů je příčinou akumulace tuku v játrech nadměrný energetický příjem (73). Nicméně chybí porovnání s jiným monosacharidem.

Ve snaze vyloučit možný vliv nadměrného energetického příjmu podávali J.-M. Schwarz *et al.* po dobu 18 dní zúčastněným osmi hospitalizovaným zdravým mužům isokalorickou dietu dvojího druhu. A to dietu s nízkým zastoupením fruktosy (ta představovala pouze 5 % celkového energetického příjmu) a dietu bohatou na fruktosu (představovala 25 % celkového energetického příjmu). U čtyř probandů sledoval vliv přechodu mezi dietou s nízkým zastoupením fruktosy na tu na fruktosu bohatou, u zbylých čtyř sledoval vliv přechodu mezi těmito druhy stravy opačným směrem. V průběhu období příjmu na fruktosu bohaté diety došlo u všech mužů k signifikantnímu vzestupu IHLC, a to bez ohledu na pořadí, v jakém byly oba druhy diet podávány (42).

Dlouhodobější následky konzumace různých druhů nápojů zkoumali M. Maersk *et al.* ve své studii s účastí šedesáti zdravých dobrovolníků. Ty náhodně rozdělili do čtyř skupin tak, že zástupci každé z nich po dobu 6 měsíců konzumovali denně jeden z uvedených druhů nápojů: sacharosou slazená cola, polotučné mléko, aspartamem slazená dietní cola, neperlivá voda. Výsledkem byl signifikantní nárůst

IHLC u zástupců skupiny, které byla podávána sacharosou slazená cola, v porovnání s ostatními třemi skupinami. Tento výsledek autoři přičítají vlivu fruktosy, která byla v podobě sacharosy v podávané cole obsažena (74). Nicméně v tomto případě nelze jednoznačně prokázat, zda výraznější roli nehrál spíše nadměrný energetický příjem.

M.-R. Taskinen *et al.* ve své studii, do níž bylo zapojeno 71 obézních mužů, zkoumali účinky podávání fruktosy v denní dávce 75 g po dobu 12 týdnů. Takováto denní dávka fruktosy představovala hyperkalorickou dietu srovnatelnou se skutečným denním přísunem fruktosy u obézních lidí. U probandů se prokázala vysoká míra variability změn IHLC, zahrnující nejen jeho nárůst, ale i setrvání na zhruba původní hodnotě či dokonce pokles, nicméně v celém souboru došlo k průměrnému nárůstu IHLC o 10 %. Důvod není zcela zřejmý, ale mohl by souviset s odlišnými stravovacími návyky probandů před zahájením studie. Ve snaze tento fenomén vysvětlit autoři u probandů vyšetřovali geny spojené se zvýšeným rizikem rozvoje NAFLD (PNPLA3, TM6SF2, MBOAT7), nicméně souvislost přítomnosti rizikových alel těchto genů s výraznější mírou akumulace tuku v játrech po aplikované fruktosové zátěži prokázána nebyla. V průběhu intervence došlo k mírnému průměrnému nárůstu tělesné hmotnosti (o 1,1 %) (9).

R. D. Johnston *et al.* provedl studii se 32 muži s nadváhou až obezitou, v níž porovnávali efekt podávání fruktosy a glukosy (fruktosa či glukosa tvořila vždy 25 % celkového energetického příjmu) podle schématu dva týdny isokalorické na fruktosu/glukosu bohaté stravy, poté šestitýdenní „washout“ perioda a následně dva týdny hyperkalorické na fruktosu/glukosu bohaté diety. V průběhu isokalorické periody nedošlo k nárůstu tělesné hmotnosti ani IHLC ani u jedné ze skupin. Naopak během hyperkalorické periody byl u obou skupin zaznamenán signifikantní nárůst IHLC provázený mírným nárůstem tělesné hmotnosti (75).

V řadě studií ovšem výraznější vliv konzumace fruktosy na nárůst IHLC prokázán nebyl. Jedná se zejména o studie, do níž byli zapojeni zdraví dobrovolníci.

Ve studii K.-A. Lê *et al.* měření IHLC pomocí ¹H MRS po čtyřtýdenním podávání fruktosy v denní dávce 1,5 g/kg tělesné hmotnosti sedmi zdravým mužům signifikantní nárůst IHLC neprokázala. Zároveň nedošlo k nárůstu tělesné hmotnosti. Autoři si to vysvětlují snahou hepatocytů zabránit potenciálně nebezpečné akumulaci tuku v játrech, jež je důsledkem fruktosou akcelerované DNL, pomocí zvýšené sekrece TG ve VLDL částicích do krevního řečiště. V souladu s touto hypotézou byl signifikantní vzestup koncentrace VLDL-TG po intervenci (76).

Účastníci studie G. Silbernagela *et al.* (dvacet zdravých mužů) konzumovali denně 150 g fruktosy či glukosy jako doplněk izokalorické diety po dobu čtyř týdnů. I přes tento výrazně hyperkalorický příjem ani v jednom případě k signifikantnímu nárůstu IHLC nedošlo (77).

S. Smajis *et al.* provedli studii s deseti zdravými dobrovolníky (pět mužů a pět žen), kteří ke své obvyklé stravě po dobu 8 týdnů konzumovali fruktosu v dávce 150 g/den. K signifikantnímu nárůstu IHLC nedošlo. Zároveň nebyl zaznamenán signifikantní nárůst tělesné hmotnosti. Autoři z toho vyvodili závěr, že i vysoký příjem fruktosy jsou zdraví lidé při stálém kalorickém příjmu schopni kompenzovat tak, aby nedocházelo ke zvýšenému ukládání energetických zásob v podobě TG v hepatocytech. Přitom udržení hmotnosti na zhruba stejné úrovni jako před zahájením intervence přisuzují spontánní redukci příjmu jiných sacharidů při nezměněné úrovni fyzické aktivity (přestože byli účastníci požádáni, aby na svých dosavadních stravovacích návycích nic neměnili) (78).

Závěr

Vzhledem k rozdílným a často si rozporujícím výsledkům výše uvedených studií míry vlivu konzumace fruktosy na ukládání tuku v játrech není dle mého názoru možno jednoznačný závěr stanovit. Podíl na této skutečnosti má také fakt, že provedení dietně-intervenčních studií je obecně materiálně, metodologicky i časově náročné, skýtá řadu limitací a výsledky nemusí být interpretovány zcela správně.

Domnívám se, že situace je odlišná v případě zdravých jedinců v porovnání s lidmi s nadváhou, obezitou a dalšími s nimi asociovanými komorbiditami a zároveň, že míra akumulace tuku v játrech závisí na velikosti konzumované dávky fruktosy.

Není-li fruktosa zdravými lidmi přijímána excesivně, mechanismy jejího metabolického zpracování (zahrnující zejména její přeměnu v glukosu a organické kyseliny, které jsou pak dále zpracovávány, viz Metabolismus fruktosy v enterocytech) mají dostatečnou kapacitu k tomu, aby k patologickému ukládání tuku v játrech nedocházelo. Toto tvrzení podporují výsledky výše zmíněných studií autorů K.-A. Lê *et al.* (76) a V. Lecoultre *et al.* (70), v nichž podávání fruktosy v dávce 1,5 g/kg tělesné hmotnosti k nárůstu IHLC nevedlo. S tímto tvrzením jsou naopak v rozporu výsledky studie J.-M. Schwarze *et al.* z roku 2015, které uvádějí signifikantní nárůst IHLC u všech osmi zúčastněných zdravých mužů v průběhu podávání na fruktosu bohaté diety (42). Tato studie má ale z mého pohledu několik limitací, kterými si vysvětlují dosažené výsledky. Hospitalizace po dobu studie mohla probandům znemožňovat jejich rutinní tělesnou aktivitu a tím vést ke snížení energetického výdeje. Výraznou limitací studie je také nízký počet účastníků, čítající dvě skupiny po čtyřech mužích, který nepředstavuje statisticky zcela relevantní soubor dat. V případě konzumace fruktosy při hyperkalorickém příjmu nejspíše záleží na individuální metabolické výbavě a dalších faktorech. V některých studiích totiž i přes výrazně hyperkalorický příjem (150 g fruktosy denně) k nárůstu IHLC u zdravých probandů nedošlo (viz G. Silbernagel *et al.* (77), S. Smajis *et al.* (78)). To by se v souladu se závěrem druhé jmenované studie dalo odůvodnit tím, že zdraví lidé mají mechanismy kompenzace několikátýdenního vysokého příjmu fruktosy natolik účinné, že ukládání tuku v játrech dokáží zamezit. Jiné studie naopak uvádějí vzrůst

IHLC u zdravých probandů při hyperkalorické dietě zahrnující konzumaci fruktosy v denních dávkách 3 a 4 g/kg (V. Lecoultre *et al.* (70)) a 3,5 g/kg (E. T. Ngo Sock *et al.* (71), H. Sobrecases *et al.* (73)). V těchto případech se ale i v souladu se závěry některých autorů a výsledky studií s hyperkalorickým příjmem glukosy (71) a tuků (72), přikláním k názoru, že hlavní příčinou vzrůstu IHLC je nadměrný energetický příjem obecně, který v případě neúměrného energetického výdeje vede k nárůstu tělesné hmotnosti (9, 72, 75) a vzestup IHLC je poté projevem doprovodné ektopické depozice hromadícího se tuku.

U lidí s nadváhou a zejména obezitou se domnívám, že s tímto patologickým stavem spojené komorbidity vedou k dysregulaci metabolických drah, což má za následek patologickou akumulaci tuku v játrech již při nižším příjmu fruktosy. A její excesivní konzumace, která je často součástí životního stylu obézních lidí, poté vede k mnohem výraznějšímu vzrůstu IHLC. Tuto domněnku podporují výsledky studie M.-R. Taskinen *et al.*, kde po dvanáctidenní konzumaci fruktosy v dávce 75 g denně zúčastněnými obézními muži byl zaznamenán signifikantní nárůst IHLC (9) na rozdíl od absence nárůstu IHLC v případě konzumace fruktosy zdravými dobrovolníky, a to i při dvojnásobné dávce (77, 78).

Domnívám se, že fruktosa sama o sobě, je-li zdravým člověkem konzumována v přiměřeném množství, nepřispívá v porovnání s jinými monosacharidy (zejména glukosou) k akumulaci tuku v játrech nijak výjimečným způsobem. I přes to výzkum v oblasti terapeutik cílících na metabolismus fruktosy vykazuje slibné výsledky. To připouští možnost, že za určitých podmínek může fruktosa v akumulaci tuku v játrech hrát významnou roli. Recentní studie autorů J. A. Gutierrez *et al.* na potkanech zaznamenala po podání inhibitoru *ketohexokinasy* zlepšení a v některých případech dokonce normalizaci jaterní steatózy a hypertriglyceridémie (79). Nicméně v tomto případě je nutno dodat, že zkoumaná jaterní steatóza byla vyvolána výhradně arteficiální nadměrnou konzumací fruktosy, což ve mně vyvolává pochybnosti, zda by takto výrazného léčebného efektu bylo dosaženo i v případě podání tohoto inhibitoru pacientům s NAFLD vzhledem k dalším příčinám akumulace tuku v játrech, kterými jsou často charakterizováni a které by tedy tímto mechanismem zasaženy nebyly. Nicméně report z druhé fáze klinického testování na lidských dobrovolnících uvádí signifikantní snížení IHLC po podání dostatečně vysoké dávky inhibitoru (80). Zdá se tedy, že zablokování fruktolýzy je jedním z nadějných směrů vývoje nových přípravků pro léčbu NAFLD.

Problematika úlohy fruktosy v akumulaci tuku v játrech a rozvoji NAFLD zůstává nadále nevyřešena. Vzhledem k celosvětově stoupající incidenci NAFLD, existenci závažných zdravotních komplikací s NAFLD spojených a současně rostoucí spotřebě fruktosy v podobě nápojů i potravin by se výzkumu v této oblasti mělo dále věnovat intenzivní úsilí.

Zdroje

1. Allen AM, Therneau TM, Larson JJ, Coward A, Somers VK, Kamath PS. Nonalcoholic fatty liver disease incidence and impact on metabolic burden and death: A 20 year-community study. *Hepatology*. 2018;67(5):1726-36.
2. * Loomba R, Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10(11):686-90.
3. Serfaty L, Lemoine M. Definition and natural history of metabolic steatosis: clinical aspects of NAFLD, NASH and cirrhosis. *Diabetes Metab*. 2008;34(6 Pt 2):634-7.
4. Page JM, Harrison SA. NASH and HCC. *Clin Liver Dis*. 2009;13(4):631-47.
5. Soderberg C, Stal P, Askling J, Glaumann H, Lindberg G, Marmur J, et al. Decreased survival of subjects with elevated liver function tests during a 28-year follow-up. *Hepatology*. 2010;51(2):595-602.
6. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2005;129(1):113-21.
7. Westfall E, Jeske R, Bader AR. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Common Questions and Answers on Diagnosis and Management. *Am Fam Physician*. 2020;102(10):603-12.
8. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*. 2011;43(8):617-49.
9. Taskinen MR, Soderlund S, Bogl LH, Hakkarainen A, Matikainen N, Pietilainen KH, et al. Adverse effects of fructose on cardiometabolic risk factors and hepatic lipid metabolism in subjects with abdominal obesity. *J Intern Med*. 2017;282(2):187-201.
10. Geidl-Flueck B, Hochuli M, Nemeth A, Eberl A, Derron N, Kofeler HC, et al. Fructose- and sucrose- but not glucose-sweetened beverages promote hepatic de novo lipogenesis: A randomized controlled trial. *J Hepatol*. 2021;75(1):46-54.
11. Chen H, Wang J, Li Z, Lam CWK, Xiao Y, Wu Q, et al. Consumption of Sugar-Sweetened Beverages Has a Dose-Dependent Effect on the Risk of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: An Updated Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(12).
12. Winkler MR, Lenk K, Erickson D, Laska MN. Secular trends and customer characteristics of sweetened beverage and water purchasing at US convenience and other small food stores, 2014-2017. *Int J Behav Nutr Phys Act*. 2022;19(1):37.
13. Klurfeld DM, Foreyt J, Angelopoulos TJ, Rippe JM. Lack of evidence for high fructose corn syrup as the cause of the obesity epidemic. *Int J Obes (Lond)*. 2013;37(6):771-3.

14. * Han HS, Kang G, Kim JS, Choi BH, Koo SH. Regulation of glucose metabolism from a liver-centric perspective. *Exp Mol Med.* 2016;48:e218.
15. * Rui L. Energy metabolism in the liver. *Compr Physiol.* 2014;4(1):177-97.
16. Barone S, Fussell SL, Singh AK, Lucas F, Xu J, Kim C, et al. Slc2a5 (Glut5) is essential for the absorption of fructose in the intestine and generation of fructose-induced hypertension. *J Biol Chem.* 2009;284(8):5056-66.
17. * Wright EM. I. Glucose galactose malabsorption. *Am J Physiol.* 1998;275(5):G879-82.
18. Cheeseman CI. GLUT2 is the transporter for fructose across the rat intestinal basolateral membrane. *Gastroenterology.* 1993;105(4):1050-6.
19. Jang C, Hui S, Lu W, Cowan AJ, Morscher RJ, Lee G, et al. The Small Intestine Converts Dietary Fructose into Glucose and Organic Acids. *Cell Metab.* 2018;27(2):351-61 e3.
20. Dusilova T, Kovar J, Drobny M, Sedivy P, Dezortova M, Poledne R, et al. Different acute effects of fructose and glucose administration on hepatic fat content. *Am J Clin Nutr.* 2019;109(6):1519-26.
21. * Herman MA, Birnbaum MJ. Molecular aspects of fructose metabolism and metabolic disease. *Cell Metab.* 2021;33(12):2329-54.
22. Heinz F, Lamprecht W, Kirsch J. Enzymes of fructose metabolism in human liver. *J Clin Invest.* 1968;47(8):1826-32.
23. Sun SZ, Empie MW. Fructose metabolism in humans - what isotopic tracer studies tell us. *Nutr Metab (Lond).* 2012;9(1):89.
24. Tang WH, Martin KA, Hwa J. Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus. *Front Pharmacol.* 2012;3:87.
25. * Tappy L. Metabolism of sugars: A window to the regulation of glucose and lipid homeostasis by splanchnic organs. *Clin Nutr.* 2021;40(4):1691-8.
26. Kawasaki T, Akanuma H, Yamanouchi T. Increased fructose concentrations in blood and urine in patients with diabetes. *Diabetes Care.* 2002;25(2):353-7.
27. Chong MF, Fielding BA, Frayn KN. Mechanisms for the acute effect of fructose on postprandial lipemia. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(6):1511-20.
28. * Tappy L, Le KA. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev.* 2010;90(1):23-46.
29. Underwood AH, Newsholme EA. Properties of Phosphofructokinase from Rat Liver and Their Relation to the Control of Glycolysis and Gluconeogenesis. *Biochem J.* 1965;95:868-75.
30. Iizuka K, Bruick RK, Liang G, Horton JD, Uyeda K. Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(19):7281-6.

31. Nagai Y, Nishio Y, Nakamura T, Maegawa H, Kikkawa R, Kashiwagi A. Amelioration of high fructose-induced metabolic derangements by activation of PPARalpha. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;282(5):E1180-90.
32. Koo HY, Miyashita M, Cho BH, Nakamura MT. Replacing dietary glucose with fructose increases ChREBP activity and SREBP-1 protein in rat liver nucleus. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;390(2):285-9.
33. Kim MS, Krawczyk SA, Doridot L, Fowler AJ, Wang JX, Trauger SA, et al. ChREBP regulates fructose-induced glucose production independently of insulin signaling. *J Clin Invest.* 2016;126(11):4372-86.
34. * Ter Horst KW, Serlie MJ. Fructose Consumption, Lipogenesis, and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients.* 2017;9(9).
35. Spence JT, Pitot HC. Induction of lipogenic enzymes in primary cultures of rat hepatocytes. Relationship between lipogenesis and carbohydrate metabolism. *Eur J Biochem.* 1982;128(1):15-20.
36. Prager GN, Ontko JA. Direct effects of fructose metabolism on fatty acid oxidation in a recombined rat liver mitochondria-high speed supernatant system. *Biochim Biophys Acta.* 1976;424(3):386-95.
37. Thorburn AW, Storlien LH, Jenkins AB, Khouri S, Kraegen EW. Fructose-induced in vivo insulin resistance and elevated plasma triglyceride levels in rats. *Am J Clin Nutr.* 1989;49(6):1155-63.
38. van den Berghe G, Bronfman M, Vanneste R, Hers HG. The mechanism of adenosine triphosphate depletion in the liver after a load of fructose. A kinetic study of liver adenylate deaminase. *Biochem J.* 1977;162(3):601-9.
39. Hochuli M, Aeberli I, Weiss A, Hersberger M, Troxler H, Gerber PA, et al. Sugar-sweetened beverages with moderate amounts of fructose, but not sucrose, induce Fatty Acid synthesis in healthy young men: a randomized crossover study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(6):2164-72.
40. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest.* 2005;115(5):1343-51.
41. Abdel-Sayed A, Binnert C, Le KA, Bortolotti M, Schneiter P, Tappy L. A high-fructose diet impairs basal and stress-mediated lipid metabolism in healthy male subjects. *Br J Nutr.* 2008;100(2):393-9.
42. Schwarz JM, Noworolski SM, Wen MJ, Dyachenko A, Prior JL, Weinberg ME, et al. Effect of a High-Fructose Weight-Maintaining Diet on Lipogenesis and Liver Fat. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(6):2434-42.

43. Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, Griffen SC, Bremer AA, Graham JL, et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest*. 2009;119(5):1322-34.
44. Stanhope KL, Bremer AA, Medici V, Nakajima K, Ito Y, Nakano T, et al. Consumption of fructose and high fructose corn syrup increase postprandial triglycerides, LDL-cholesterol, and apolipoprotein-B in young men and women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(10):E1596-605.
45. Fabbrini E, Mohammed BS, Magkos F, Korenblat KM, Patterson BW, Klein S. Alterations in adipose tissue and hepatic lipid kinetics in obese men and women with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2008;134(2):424-31.
46. Steenson S, Shojaee-Moradie F, M BW, K GJ, Lovegrove JA, B AF, et al. The Effect of Fructose Feeding on Intestinal Triacylglycerol Production and De Novo Fatty Acid Synthesis in Humans. *Nutrients*. 2020;12(6).
47. Korn ED. Clearing factor, a heparin-activated lipoprotein lipase. I. Isolation and characterization of the enzyme from normal rat heart. *J Biol Chem*. 1955;215(1):1-14.
48. Le KA, Ith M, Kreis R, Faeh D, Bortolotti M, Tran C, et al. Fructose overconsumption causes dyslipidemia and ectopic lipid deposition in healthy subjects with and without a family history of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(6):1760-5.
49. Lee O, Bruce WR, Dong Q, Bruce J, Mehta R, O'Brien PJ. Fructose and carbonyl metabolites as endogenous toxins. *Chem Biol Interact*. 2009;178(1-3):332-9.
50. Bawden SJ, Stephenson MC, Ciampi E, Hunter K, Marciani L, Macdonald IA, et al. Investigating the effects of an oral fructose challenge on hepatic ATP reserves in healthy volunteers: A (31)P MRS study. *Clin Nutr*. 2016;35(3):645-9.
51. Van Schaftingen E, Vandercammen A. Stimulation of glucose phosphorylation by fructose in isolated rat hepatocytes. *Eur J Biochem*. 1989;179(1):173-7.
52. Niculescu L, Veiga-da-Cunha M, Van Schaftingen E. Investigation on the mechanism by which fructose, hexitols and other compounds regulate the translocation of glucokinase in rat hepatocytes. *Biochem J*. 1997;321 (Pt 1):239-46.
53. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*. 2012;55(6):2005-23.
54. McPherson S, Hardy T, Henderson E, Burt AD, Day CP, Anstee QM. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. *J Hepatol*. 2015;62(5):1148-55.
55. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2002;123(1):134-40.

56. * Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science*. 2011;332(6037):1519-23.
57. Bruha R. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Vnitr Lek*. 2019;65(9):571-5.
58. Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, et al. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005;288(2):E462-8.
59. * Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016;64(1):73-84.
60. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004;40(6):1387-95.
61. Fabbrini E, Magkos F, Mohammed BS, Pietka T, Abumrad NA, Patterson BW, et al. Intrahepatic fat, not visceral fat, is linked with metabolic complications of obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(36):15430-5.
62. * Eslam M, Sanyal AJ, George J, International Consensus P. MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2020;158(7):1999-2014 e1.
63. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*. 2008;40(12):1461-5.
64. Sookoian S, Castano GO, Burgueno AL, Gianotti TF, Rosselli MS, Pirola CJ. A nonsynonymous gene variant in the adiponutrin gene is associated with nonalcoholic fatty liver disease severity. *J Lipid Res*. 2009;50(10):2111-6.
65. Kozlitina J, Smagris E, Stender S, Nordestgaard BG, Zhou HH, Tybjaerg-Hansen A, et al. Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*. 2014;46(4):352-6.
66. Jarvis H, Craig D, Barker R, Spiers G, Stow D, Anstee QM, et al. Metabolic risk factors and incident advanced liver disease in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): A systematic review and meta-analysis of population-based observational studies. *PLoS Med*. 2020;17(4):e1003100.
67. * Marusic M, Paic M, Knobloch M, Liberati Prso AM. NAFLD, Insulin Resistance, and Diabetes Mellitus Type 2. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2021;2021:6613827.
68. * Geng Y, Faber KN, de Meijer VE, Blokzijl H, Moshage H. How does hepatic lipid accumulation lead to lipotoxicity in non-alcoholic fatty liver disease? *Hepatol Int*. 2021;15(1):21-35.

69. Alonso C, Fernandez-Ramos D, Varela-Rey M, Martinez-Arranz I, Navasa N, Van Liempd SM, et al. Metabolomic Identification of Subtypes of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2017;152(6):1449-61 e7.
70. Lecoultre V, Egli L, Carrel G, Theytaz F, Kreis R, Schneiter P, et al. Effects of fructose and glucose overfeeding on hepatic insulin sensitivity and intrahepatic lipids in healthy humans. *Obesity (Silver Spring)*. 2013;21(4):782-5.
71. Ngo Sock ET, Le KA, Ith M, Kreis R, Boesch C, Tappy L. Effects of a short-term overfeeding with fructose or glucose in healthy young males. *Br J Nutr*. 2010;103(7):939-43.
72. Bortolotti M, Kreis R, Debard C, Cariou B, Faeh D, Chetiveaux M, et al. High protein intake reduces intrahepatocellular lipid deposition in humans. *Am J Clin Nutr*. 2009;90(4):1002-10.
73. Sobrecases H, Le KA, Bortolotti M, Schneiter P, Ith M, Kreis R, et al. Effects of short-term overfeeding with fructose, fat and fructose plus fat on plasma and hepatic lipids in healthy men. *Diabetes Metab*. 2010;36(3):244-6.
74. Maersk M, Belza A, Stodkilde-Jorgensen H, Ringgaard S, Chabanova E, Thomsen H, et al. Sucrose-sweetened beverages increase fat storage in the liver, muscle, and visceral fat depot: a 6-mo randomized intervention study. *Am J Clin Nutr*. 2012;95(2):283-9.
75. Johnston RD, Stephenson MC, Crossland H, Cordon SM, Palcidi E, Cox EF, et al. No difference between high-fructose and high-glucose diets on liver triacylglycerol or biochemistry in healthy overweight men. *Gastroenterology*. 2013;145(5):1016-25 e2.
76. Le KA, Faeh D, Stettler R, Ith M, Kreis R, Vermathen P, et al. A 4-wk high-fructose diet alters lipid metabolism without affecting insulin sensitivity or ectopic lipids in healthy humans. *Am J Clin Nutr*. 2006;84(6):1374-9.
77. Silbernagel G, Machann J, Unmuth S, Schick F, Stefan N, Haring HU, et al. Effects of 4-week very-high-fructose/glucose diets on insulin sensitivity, visceral fat and intrahepatic lipids: an exploratory trial. *Br J Nutr*. 2011;106(1):79-86.
78. Smajis S, Gajdosik M, Pflieger L, Traussnigg S, Kienbacher C, Halilbasic E, et al. Metabolic effects of a prolonged, very-high-dose dietary fructose challenge in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*. 2020;111(2):369-77.
79. Gutierrez JA, Liu W, Perez S, Xing G, Sonnenberg G, Kou K, et al. Pharmacologic inhibition of ketohexokinase prevents fructose-induced metabolic dysfunction. *Mol Metab*. 2021:101196.
80. Kazierad DJ, Chidsey K, Somayaji VR, Bergman AJ, Birnbaum MJ, Calle RA. Inhibition of ketohexokinase in adults with NAFLD reduces liver fat and inflammatory markers: A randomized phase 2 trial. *Med (N Y)*. 2021;2(7):800-13 e3.

* Hvězdičkou jsou označeny sekundární zdroje.