

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd



**Nealkoholová tuková choroba jater: laboratorní diagnostika**

**Bakalářská práce**

Vedoucí bakalářské práce: doc. PharmDr. Iva Boušová, Ph.D.

Hradec Králové 2022

Eliška Janovská



## **PROHLÁŠENÍ**

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych poděkovala vedoucí práce doc. PharmDr. Ivě Boušové Ph.D., za možnost zabývat se a zpracovat toto zajímavé téma a za veškeré cenné rady a připomínky. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, za podporu a pomoc, kterou mi během psaní bakalářské práce poskytli.

# OBSAH

OBSAH.....	1
SEZNAM ZKRATEK .....	3
1 ÚVOD.....	4
2 CÍL PRÁCE .....	5
3 ANATOMIE A HISTOLOGIE JATER .....	6
3.1. BUŇKY JATERNÍ TKÁŇĚ.....	7
4 FUNKCE JATER .....	8
4.1. DETOXIKACE .....	8
4.2. TVORBA A VYLUČOVÁNÍ ŽLUČI.....	9
4.3. METABOLISMUS .....	9
4.3.1. Metabolismus sacharidů .....	9
4.3.2. Glykolýza a pentózový cyklus.....	10
4.3.3. Metabolismus proteinů a aminokyselin .....	10
4.3.4. Metabolismus lipidů .....	10
4.4. REGENERACE JATER .....	11
5 NEALKOHOLOVÁ TUKOVÁ CHOROBA JATER.....	13
5.1. EPIDEMIOLOGIE A PREVALENCE NAFLD .....	14
5.2. ETIOPATOGENEZE.....	15
5.2.1. METABOLICKÝ SYNDROM A OBEZITA .....	15
5.2.2. INZULINOVÁ REZISTENCE.....	16
5.2.3. OXIDAČNÍ STRES.....	16
5.2.4. IMUNITNÍ ODPOVĚĎ.....	18
5.2.5. METABOLISMUS LIPIDŮ .....	18
5.3. HISTOPATOLOGIE.....	19
5.3.1. Nealkoholická steatóza .....	19
5.3.2. Nealkoholická steatohepatitida .....	19
5.3.3. Histopatologické hodnocení NAFLD/NASH .....	20
6 VYŠETŘOVACÍ METODY V HEPATOLOGII.....	21
6.1. INVAZIVNÍ VYŠETŘOVACÍ TECHNIKY .....	21
6.1.1. JATERNÍ BIOPSIE .....	21
6.2. NEINVAZIVNÍ VYŠETŘOVACÍ TECHNIKY .....	21

6.2.1.	ZOBRAZOVACÍ TECHNIKY .....	22
6.3.	MARKERY JATERNÍHO ONEMOCNĚNÍ.....	23
6.3.1.	AST a ALT .....	24
6.3.2.	$\gamma$ – GLUTAMYLTRANSFERÁZA.....	24
6.4.	SÉROVÉ MARKERY .....	24
6.4.1.	BIOMARKERY APOPTÓZY .....	25
6.4.2.	LIPIDOVÉ SPEKTRUM.....	26
6.4.3.	ADIPOKINY A CYTOKINY .....	27
6.5.	GENETICKÉ MARKERY .....	28
6.5.1.	GENOVÉ MUTACE .....	28
6.6.	MARKERY JATERNÍ FIBRÓZY .....	28
6.7.	SKÓROVACÍ SYSTÉMY.....	29
6.7.1.	SKÓROVACÍ SYSTÉMY JATERNÍ FIBRÓZY .....	29
6.7.2.	SKÓROVACÍ SYSTÉMY JATERNÍ STEATÓZY.....	30
7	LÉČBA .....	31
7.1.	Změna životosprávy .....	31
7.2.	Ovlivnění inzulínové rezistence .....	31
7.3.	Farmakoterapie.....	31
8	ZÁVĚR .....	33
9	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	34
10	PŘÍLOHY .....	39
10.1.	SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ.....	39
10.2.	SEZNAM TABULEK.....	39

## SEZNAM ZKRATEK

acetyl-CoA	acetylkoenzym A
ALT	alaninaminotransferáza
A2M	$\alpha$ -2-makroglobulin
AST	aspartátaminotransferáza,
CK-18	cytokeratin 18
CT	výpočetní tomografie
GGT	$\gamma$ -glutamyltransferáza
HA	kyselina hyaluronová
HDL	lipoproteiny o vysoké hustotě
IDL	lipoproteiny o střední hustotě
IL-1, IL-6	interleukin 1, interleukin 6
LC/MS	kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
LDL	lipoproteiny o nízké hustotě
MR	magnetické rezonance
NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NAFLD	nealkoholické tukové jaterní onemocnění
NASH	nealkoholová steatohepatitida
NF- $\kappa$ B	jaderný faktor- $\kappa$ B
MK	mastné kyseliny
PNPLA3	adiponutrin ( <i>Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3</i> )
PPAR $\alpha$	<i>peroxisome proliferator-activated receptors <math>\alpha</math></i>
ROS	reaktivní formy kyslíku
SNP	jednonukleotidový polymorfismus
SREBP1	<i>sterol regulatory element binding protein 1</i>
STAT3	<i>signal transducer and activator of transcription 3</i>
TAG	triacylglycerol
TM6SF2	<i>Transmembrane 6 Superfamily Member 2</i>
TNF- $\alpha$	tumor nekrotizující faktor alfa
VLDL	lipoproteiny o velmi nízké hustotě

# 1 ÚVOD

Nealkoholové tukové choroba jater (NAFLD) patří mezi onemocnění, při nichž dochází k poškození jaterní tkáně, a to bez konzumace velkého množství alkoholu (<20g etanolu/den). Patologický nález při tomto poškození jaterní tkáně je velmi podobný jako u onemocnění alkoholické povahy. V průběhu NAFLD dochází k akumulaci tuků v játrech a bez následné léčby může dále progredovat a způsobit závažné stavy jako je cirhóza jater nebo hepatocelulární karcinom. Je také spojováno s mimojaterními projevy ohrožující zdraví pacienta. Prevalence onemocnění se stále zvyšuje a stává se v dnešní době velkým zdravotním problémem. Z tohoto důvodu je velmi důležitá včasná diagnostika onemocnění a zahájení léčby. Kromě jaterní biopsie nejsou ostatní diagnostické techniky schopny s naprostou jistotou určit a odlišit jednotlivá stádia onemocnění, a proto je důležité nalézt marker, vhodný v diagnostice NAFLD.



## **2 CÍL PRÁCE**

- uvedení do problematiky nealkoholové tukové choroby jater
- shrnutí postupů používaných k diagnostice onemocnění
- charakteristika biomarkerů a jejich možné využití v praxi

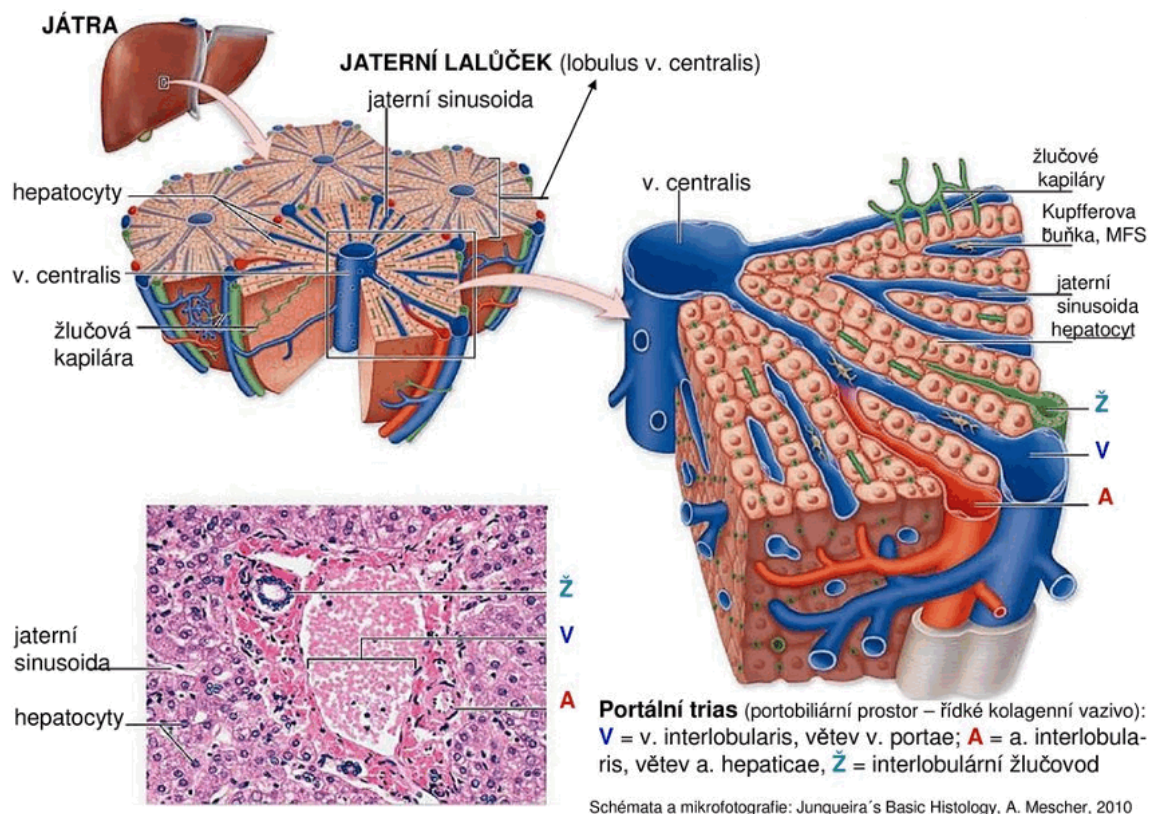
### 3 ANATOMIE A HISTOLOGIE JATER

Játra (lat. hepar) jsou nepárový orgán se stavbou exokrinní žlázy. Jedná se o největší orgán lidského těla. Jejich hmotnost se pohybuje v rozmezí 1200–1800 g v závislosti na pohlaví a věku. U dospělého člověka představují 2 % tělesné hmotnosti, oproti tomu u novorozenců tvoří až kolem 5 % tělesné hmotnosti. Zdravá játra mají hnědočervenou barvu a vyšší teplotu než okolní orgány (důvodem je bohaté cévní zásobení). Nachází se v peritoneální dutině v pravé horní části těsně pod bránicí. Svým tvarem připomínají trojboký jehlan, jehož horní hrana přiléhá k bránici (facies diaphragmatica) a dolní plocha je obrácená k orgánům v dutině břišní (facies visceralis). Orgány zanechávají na fascies visceralis zřetelné otisky. Játra jsou celá kryta lesklým peritoneálním povlakem, který z povrchu přechází na závěsy jater, které slouží k fixaci jater v dutině břišní. Tunica fibrosa (capsula Glissoni) je vazivový povlak jaterní tkáně, ke které je řídkým vazivem připojeno peritoneum (pobříšnice). V místě zvaném area nuda játra přímo srůstají s bránicí a nejsou zde kryta peritoneem [1,2].

Játra jsou prostřednictvím jaterních rýh (tvar písmene H) rozdělena na čtyři laloky: pravý lalok (lobus dexter) je největší ze všech čtyř laloků, levý lalok (lobus sinister) je o něco menší, čtverhranný lalok (lobus quadratus) se nachází mezi pravým a levým lalokem a ocasatý lalok (lobus caudatus) je nejmenší lalok nacházející se vzadu mezi pravým a levým lalokem. Játra lze dále dělit podle krevního zásobení. Toto dělení vychází z větvení jaterní triády (Glissonova triáda), ta je tvořena portální žílou, jaterní arterií a žlučovými kanálky. Pomocí tohoto funkčního dělení můžeme játra rozdělit na osm jaterních segmentů značených římskými čísly (I – VIII) [1,2].

Základní morfologickou jednotkou jater je jaterní lalůček, jedná se o šestiboký, cylindrický útvar o velikosti několika milimetrů, vyplňující jaterní parenchym. V jeho středu probíhá vena centralis. Jaterní lalůček je tvořen jaterními buňkami – hepatocyty. Hepatocyty jsou polyedrické velké buňky s jedním nebo dvěma jádry a vysokou metabolickou aktivitou. Jaterní buňky se společně skládají v ploché, anastomozující trámce, které jsou radiálně uspořádány kolem centrální žíly. Mezi dvěma spojenými jaterními buňkami se vždy nachází žlučový kanálek, ústící do terminálních žlučovodů. Kanálek se nachází na tzv. žlučovém pólu hepatocytů. Mezi jednotlivými trámcí probíhají jaterní sinusoidy (cévy). Sinusoidy probíhají na opačném pólu hepatocytů, tedy na sinusovém pólu. Prostor mezi

sousedními lalůčky (tzv. portobiliární prostor) vyplňuje kolagenní vazivo a nachází se v něm Glissonova triáda [1, 2].



Obrázek 1: Histologická stavba jaterní tkáně [1]

### 3.1. BUŇKY JATERNÍ TKÁNĚ

Kromě jaterních buněk (hepatocytů) se v játrech nachází další buňky, které jsou důležité pro zajištění funkcí jater. Mezi tyto buňky patří Kupfferovy buňky, které se nacházejí v jaterním acinu. Mají charakter tkáňových makrofágů, takže pomocí fagocytózy zabráňují vstupu látek s potenciálně škodlivým účinkem do systémové cirkulace. Dalšími buňkami jsou sinusoidální endotelové buňky, které tvoří bariéru mezi krví a hepatocyty. Tato bariéra slouží jako biofiltr pro vychytávání makromolekul a modifikovaných lipoproteinů. Cholangiocyty jsou buňky žlučových vývodů a zajišťují úpravu žluči. Itovy buňky nebo také hvězdicové buňky se nacházejí v Disseho prostoru a je v nich skladován vitamín A. Pit buňky se řadí mezi vysoce pohyblivé lymfocyty a v jaterní tkáni slouží k ochraně proti virovým infekcím a nádorovým buňkám. Oválné buňky jsou buňky žlučového epitelu, které se mohou diferencovat na hepatocyty nebo buňky epitelální [1].

## 4 FUNKCE JATER

Jaterní funkce, které se mohou navzájem překrývat, můžeme rozdělit do několika typů. Jedná se o funkce syntetické (např.: syntéza albuminu), detoxikační a exkreční, regulační a zásobní, imunologické a metabolické. Některé z těchto funkcí jsou podrobněji popsány níže [1]:

1. Detoxikační funkce
2. Tvorba a vylučování žluči (exkreční funkce)
3. Metabolismus
4. Regenerace jaterní tkáně
5. Resorpce vitamínů, termoregulace

### 4.1. DETOXIKACE

Do jater přichází velké množství látek prostřednictvím venae portae. Jedná se o látky exogenního (např.: xenobiotika) i endogenního původu (např.: hormony). Některé z těchto látek mohou být pro naše tělo nebezpečné, a proto hepatocyty tyto látky vychytávají a dále zpracovávají. Během detoxikace dochází k biotransformaci potenciálně toxických látek, jejímž cílem je přeměna xenobiotik na neúčinné metabolity, které lze poté snadno vyloučit z těla. Většinou do těchto reakcí vstupují látky lipofilní povahy, které jsou špatně rozpustné ve vodě a nemohou být vyloučeny močí nebo žlučí. Biotransformace probíhá ve dvou fázích. V první fázi se uplatňuje přeměna molekul pomocí oxidačních, redukčních nebo hydrolytických reakcí, kdy dochází k zavedení nebo odkrytí funkčních skupin v molekule. Většinou se jedná o polární funkční skupiny, což urychlí vylučování molekul z těla. Hlavní roli v reakcích 1. fáze hrají enzymy z rodiny cytochromu P450, které ve své molekule obsahují hem. Jejich specificita je dána rozdílnou apoproteinovou složkou. Ve druhé fázi dochází biotransformace ke konjugačním reakcím, kdy je xenobiotikum (popř. jeho metabolit) navázáno na vysoce polární látky endogenního původu (např. kyselina glukuronová, glutathion, aminokyseliny glycin a serin, sulfát, acetát). Konjugace vede ke vzniku hydrofilních sloučenin s vyšší rozpustností, což vede k jejich snazšímu vylučování z organismu [1,4].

## 4.2. TVORBA A VYLUČOVÁNÍ ŽLUČI

Žluč je žlutohnědá, izoosmotická, hořká tekutina, která je tvořena jaterními buňkami. Žluč je tvořena z 97 % vodou, dále žlučovými kyselinami, anorganickými ionty, bilirubinem a cholesterolem. Žluč plní dvě důležité funkce:

1. dochází k exkreci látek, které nemohou být vyloučeny ledvinami
2. podílí se na trávení a vstřebávání tuků (v metabolismu plní významnou roli jako emulgátor)

Žluč se v játrech tvoří ve třech nezávislých krocích. V první fázi je žluč aktivně vylučována hepatocyty do žlučových kanálků a poté je žluč postupně upravována. Dochází k jejímu smísení s tekutinou bohatou na hydrogenuhličitany a tím vzniká tzv.: jaterní žluč, které se vytvoří zhruba 900 ml denně. Polovina z tohoto množství je odvedena do žlučníku a zde dochází k jejímu skladování a zahuštění. Koncentrace hlavních komponent žluči se zvyšuje 10 – 20x, čímž stoupá i hustota žluči. V hepatocytech jsou z cholesterolu syntetizovány primární žlučové kyseliny (kys. cholová a chenodeoxycholová). Teprve až po jejich konjugaci s taurinem nebo glycinem vznikají jejich draselné nebo sodné soli. Přítomnost fosfolipidů ve žluči slouží k ochraně hepatocytů před účinkem žlučových kyselin. Během příjmu potravy a jejího zpracování v GITu upravená žluč odtéká do tenkého střeva žlučovými cestami, kde se účastní trávicích procesů, a to především vstřebávání tuků. Ve střevě vznikají působením střevních bakterií sekundární žlučové kyseliny (kys. deoxycholová a lithocholová) [1].

## 4.3. METABOLISMUS

Játra jsou důležitým centrem lidského těla, neboť zde probíhá většina metabolických reakcí. Živiny přichází do jater portální žílou a následně zde dochází k jejich přeměně. Podle substrátů můžeme rozdělit metabolismus do tří skupin: metabolismus sacharidů, metabolismus bílkovin a aminokyselin a metabolismus tuků [1, 4].

### 4.3.1. Metabolismus sacharidů

V organismu mají sacharidy zásadní význam. Slouží jako zdroj energie pro většinu buněk a jsou velmi důležitou živinou především pro erytrocyty a mozek. Mezi hlavní metabolické dráhy probíhající v játrech patří: glykolýza, glukoneogeneze, syntéza glykogenu, glykogenolýza a pentosový cyklus [1, 4].

### **4.3.2. Glykolýza a pentózový cyklus**

Hlavním, nejčastějším a pro člověka nejdůležitějším monosacharidem v lidském organismu je glukóza. Glukóza se katabolizuje v procesu zvaném glykolýza. Nejdůležitější funkcí jater v metabolismu sacharidů je glukostatická funkce – játra udržují stálou hladinu glukózy v krvi. Pokud je v těle vysoká koncentrace glukózy v krvi (glykemie), dochází v játrech k jejímu zvýšenému vychytávání a uskladňování ve formě glykogenu. Naopak při snížené glykemii je v játrech stimulována glykogenolýza (štěpení glykogenu na glukózu) a glukoneogeneze (syntéza glukózy z necukerných složek). Glukoneogeneze probíhá především v játrech a v menší míře v ledvinách. Tento proces zajišťuje dodávání glukózy do dalších orgánů a tkání, pokud není dostatečně dodávána z potravy. Hlavními zdroji pro syntézu glukózy jsou laktát, pyruvát a aminokyseliny. V játrech probíhá rovněž pentózový cyklus, který poskytuje redukované kofaktory NADPH a pentózy. NADPH je kofaktorem enzymů, které se účastní redukčních biosyntéz a biotransformačních reakcí [1, 4].

### **4.3.3. Metabolismus proteinů a aminokyselin**

Aminokyseliny nejsou v našem těle skladovány, dochází k jejich okamžitému využití. Většina aminokyselin je degradována v játrech a tento proces probíhá ve dvou krocích. Prvním z nich je deaminace (odstranění aminoskupiny – NH<sub>2</sub>) a v druhém kroku dochází k přeměně uhlíkového skeletu. Uhlíkový skelet může být odbouráván až na oxid uhličitý a vodu nebo může být přeměněn na jiné chemické látky (např.: acetyl-CoA). Deaminační reakcí se v játrech uvolňuje amoniak. Tento volný amoniak je pro naše tělo toxický a je třeba ho detoxikovat. Detoxikace amoniaku může probíhat dvěma způsoby, prvním je tvorba močoviny v ornitinovém cyklu (detoxikováno cca 80 %), který probíhá pouze v játrech. Druhou možností detoxikace je tvorba glutaminu. Další funkcí jater je biosyntéza plazmatických proteinů, např. albuminu (hlavní bílkovina séra). Proteiny jsou v játrech tvořeny nepřetržitě a jsou skladovány v Golgiho aparátu a endoplazmatickém retikulu [1,4,5].

### **4.3.4. Metabolismus lipidů**

V metabolismu lipidů jsou ústředními orgány játra a tuková tkáň. V játrech probíhá  $\beta$ -oxidace mastných kyselin, metabolismus lipoproteinů (transport lipidů), syntéza ketolátek, mastných kyselin, fosfolipidů, triacylglycerolů a přeměna cholesterolu. Ve většině procesů se uplatňuje jako výchozí metabolit acetyl-CoA, který propojuje

metabolické pochody v našem těle. Ketolátky (aceton, acetoacetát a  $\beta$ -hydroxybutyrát ) jsou syntetizovány v játrech z acetyl-CoA, ale využívány jsou v periferních tkáních, kde slouží jako zdroj energie např.: v době hladovění. V lidském organismu se za normálních podmínek vytváří velmi malé množství ketolátek (0,1 mmol/l). Játra jsou také hlavním orgánem pro syntézu cholesterolu. Část vzniklého cholesterolu je přeměněna na žlučové kyseliny anebo zabudována do lipoproteinových komplexů, zbytek je využit pro výstavu biomembrán. Cholesterol se v našem těle syntetizuje neustále a s největší intenzitou v noci. Lipidy jsou mezi jednotlivými tkáněmi přenášeny ve formě lipoproteinových komplexů, které jsou složeny z různých lipidů a proteinů. Obal lipoproteinových částic bývá tvořen apoproteiny. Lipoproteiny můžeme třídit podle jejich hustoty a místa vzniku na chilomikrony, lipoproteiny o velmi nízké hustotě (VLDL), lipoproteiny o střední hustotě (IDL), lipoproteiny o nízké hustotě (LDL) a lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL). Lipoproteiny o velmi nízké hustotě transportují triacylglyceroly a cholesterol z jater do tkání a částice s vysokou hustotou (HDL) transportují cholesterol z tkání do jater [1, 4, 6].

#### **4.4. REGENERACE JATER**

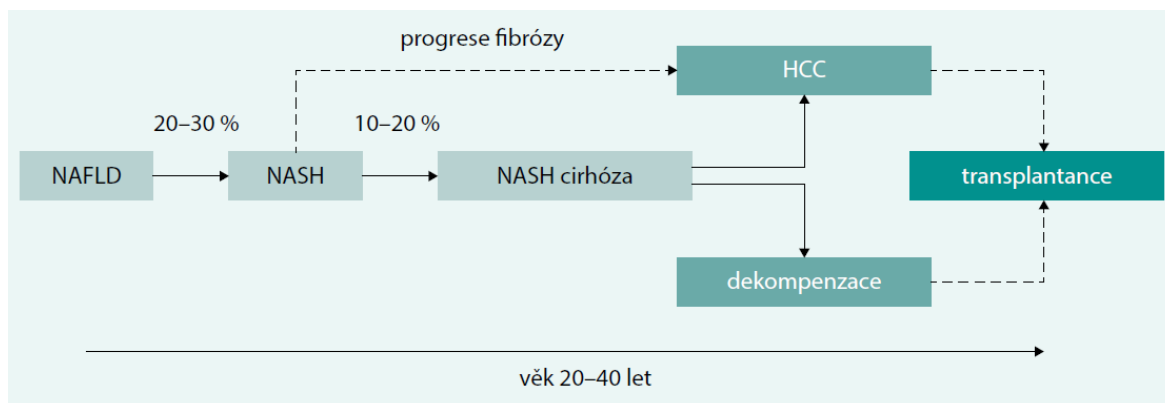
Schopnost organismu obnovit po určitém poškození jater jejich původní buněčnou populaci a funkci. Na obnově jaterní tkáně se podílí buněčná hypertrofie a hyperplazie. Předpokládá se, že v procesu regenerace existují tři principiální regulační složky a to cytokiny, růstové faktory a metabolické změny. Tyto jednotlivé složky jsou mezi sebou propojeny a tvoří komplexní síť odpovědnou za řízení regeneračního procesu. Rozlišujeme tři fáze regenerace: v iniciační fázi jsou uvolňovány protizánětlivé cytokiny (tumor-nekrotizující faktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin 1 a 6 (IL-1, IL-6)), které jsou potřebné pro aktivaci transkripčních faktorů (NF- $\kappa$ B, STAT3). Po této fázi dojde k expresi genů kódujících proteiny, které regulují buněčné aktivity G1 fáze buněčného cyklu. Další fáze se nazývá propagace a dochází zde k expresi růstových faktorů (např. růstový faktor pro hepatocyty) a proliferaci buněk. Obnova jaterních buněk začíná v periportální oblasti a pokračuje do centrilobulární oblasti během následujících 36–48 hodin. Třetí a poslední fáze je terminace. Této fáze se nejpravděpodobněji účastní komponenty mezibuněčné hmoty. Pokud došlo k velmi těžkému poškození jater, což může způsobit omezení proliferačních schopností hepatocytů, dochází k aktivaci oválných buněk v játrech. Oválné buňky mohou diferencovat v hepatocyty. Zdrojem hepatocytů mohou být také

kmenové buňky původem z kostní dřene. Mechanismus obnovy jaterní tkáně je stále intenzivně studován [1].



## 5 NEALKOHOLOVÁ TUKOVÁ CHOROBA JATER

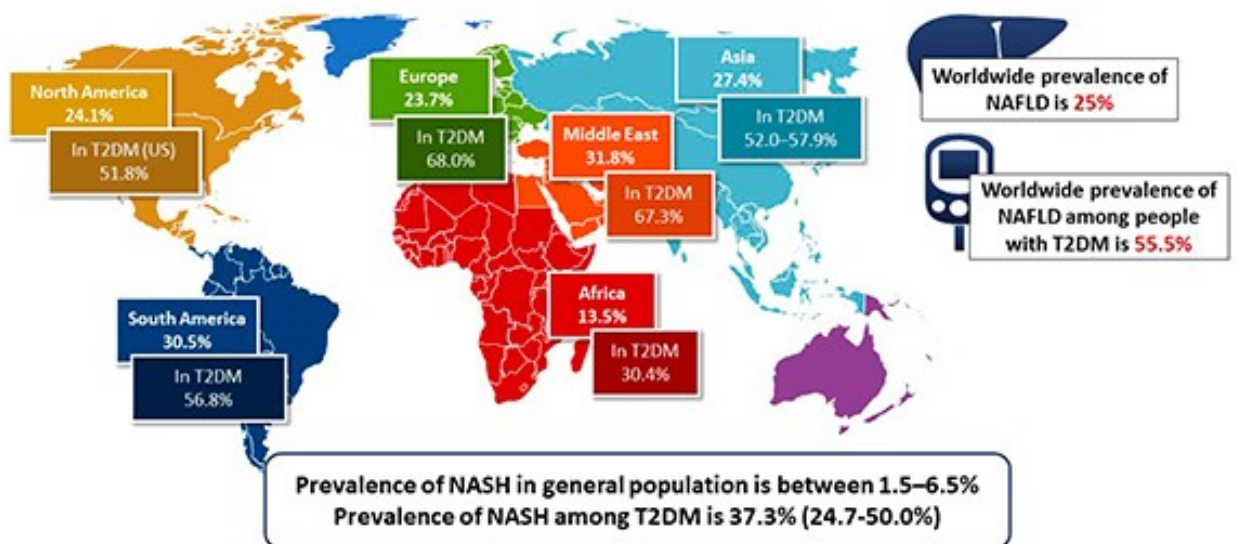
V játrech dochází k metabolickému zpracování tuků. Tento metabolický proces může být negativně ovlivňován řadou faktorů, a tím může docházet k poruchám a změnám v normálních biologických pochodech a k rozvoji lipotoxicity. Během Nealkoholové tukové choroby jater (NAFLD) dochází k akumulaci tuků, především triacylglycerolů v játrech bez významné konzumace alkoholu. Onemocnění se vyvíjí od prosté steatózy, přes nealkoholovou steatohepatitidu (NASH) a fibrózu až po jaterní cirhózu (Obr. 2). Z jaterní cirhózy mohou v pokročilejších a neléčených stádiích vznikat další komplikace jako je vznik hepatocelulárního karcinomu a rozvoj portální hypertenze. NAFLD je považována za jaterní projev metabolického syndromu a souvisí s řadou patologických stavů. Podle histologického nálezu můžeme NAFLD rozdělit do dvou kategorií, a to na prostou steatózu a na nealkoholovou steatohepatitidu, při které dochází kromě steatózy k rozvoji zánětlivé reakce [1, 7].



Obrázek 2: Vývoj jaterního onemocnění při NAFLD [7]

## 5.1. EPIDEMIOLOGIE A PREVALENCE NAFLD

Jedná se o nejčastější chronické jaterní onemocnění, které postihuje 25 % celosvětové dospělé populace. Nejvyšší prevalenci má onemocnění na Středním východě a v Jižní Americe. Předpokládaná incidence NAFLD v západních zemích je 28 nemocných/1 000 obyvatel/rok. Během posledních let došlo ke zvýšenému výskytu NAFLD z důvodu globálního nárůstu diabetu a obezity. Prevalence NAFLD se zvyšuje se zvyšujícím se indexem tělesné hmotnosti (BMI) a u pacientů s obezitou se vyskytuje ve více než 80 % případů. NAFLD také úzce souvisí s diabetem mellitem 2. typu a u těchto pacientů se vyskytuje v 75 % případů. Vliv na rozvoj onemocnění má i pohlaví, neboť byl vyšší výskyt onemocnění prokázán u mužů. Míra prevalence se zvyšuje s věkem, a proto je výskyt NAFLD vyšší u starších pacientů. Prevalence NAFLD u dětí je 3–10 % a u obézních dětí stoupá až na 40-70 %. Výskyt NASH se pohybuje mezi 1,5 – 6,5 % a zhruba 15 % ze všech vyšetřovaných osob má onemocnění již ve fázi cirhózy. Cirhóza dnes patří mezi 3. nejčastější indikaci k jaterní transplantaci. Rizikovými faktory pro vznik NASH jsou: věk nad 50 let, obezita, inzulinová rezistence, diabetes a některé genetické vlivy [7,8,9].



Obrázek 3: Mapa prevalence NAFLD [35]

## **5.2. ETIOPATOGENEZE**

Mechanismus vedoucí ke vzniku NAFLD a následné progresi do NASH je multifaktoriální. Mezi hlavní předpoklady vzniku a rozvoje NAFLD patří nepoměr mezi energetickým příjmem (nadměrný kalorický příjem) a výdejem (nízká fyzická aktivita), určitý vliv hraje i genetická zátěž a epigenetické faktory. Nepoměr mezi příjmem a výdejem energie vede k akumulaci tuků v tukové tkáni i v dalších orgánech včetně jater. Akumulací tukové tkáně vzniká obezita a rozvíjí se inzulinová rezistence. Hypertrofované adipocyty mají větší sklon k apoptóze a také u nich často dochází ke vzniku zánětlivých reakcí. Tuková tkáň se následkem obezity a vysoké hladiny cholesterolu v krvi začne chovat jako endokrinní orgán, který uvolňuje ve zvýšené míře volné mastné kyseliny a cytokiny. Přítomnost volného cholesterolu také podporuje vznik apoptózy. Zvýšená koncentrace volných mastných kyselin v tukové tkáni vede k metabolické dysregulaci, expresi proapoptických receptorů a meziproduktů metabolismu mastných kyselin. Tyto látky poté působí toxicky na jaterní tkáň a způsobují poškození hepatocytů. Progrese od prosté steatózy ke steatohepatitidě je způsobena zánětem, v důsledku poškození hepatocytů a následnou fibroprodukcí. Steatotická játra jsou mnohem citlivější k oxidačnímu poškození. Oxidační stres se zvyšuje spolu s nárůstem koncentrace volného cholesterolu v jaterních buňkách a mitochondriích. Ke zvýšení oxidačního stresu v hepatocytech také může docházet v důsledku rozvoje inzulinové rezistence. V následujícím textu bude popsána úloha hlavních patogenetických faktorů, mezi které patří metabolický syndrom a obezita, inzulinová rezistence, oxidační stres a imunitní odpověď, na rozvoj NAFLD [1, 7, 11].

### **5.2.1. METABOLICKÝ SYNDROM A OBEZITA**

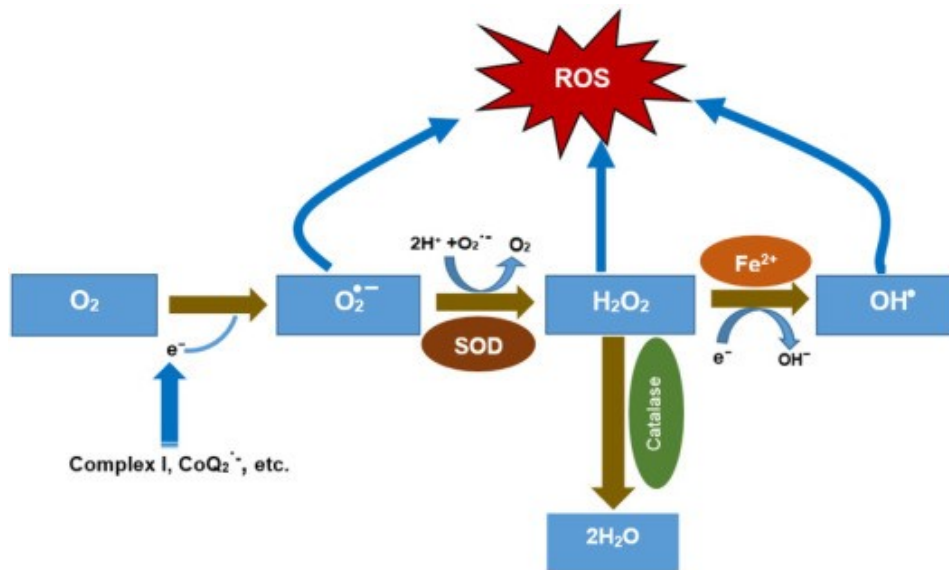
Metabolický syndrom patří k nejrozšířenějším onemocněním vyspělých zemí. V České republice tímto syndromem trpí 30 % populace. Nejedná se o nemoc, ale o soubor několika symptomů, které se často vyskytují společně. Jedním z hlavních rysů je obezita abdominálního typu, kdy dochází ke zmnožení viscerálního tuku. Obezita je spojena s dysfunkcí adipocytů, což vyvolá syntézu adipokinů a cytokinů z tukové tkáně a tím dochází k ovlivnění metabolismu lipidů a glukózy. Mezi další rysy metabolického syndromu patří inzulinová rezistence, arteriální hypertenze, dyslipidemie a diabetes mellitus 2. typu. Metabolický syndrom může způsobit aterosklerózu a kardiovaskulární onemocnění. Nealkoholová prostá steatóza úzce souvisí s metabolickým syndromem [7,12,13].

### **5.2.2. INZULINOVÁ REZISTENCE**

Inzulin je hormon, vytvářený v Langerhansových ostrůvcích slinivky břišní. V našem těle plní mnoho metabolických funkcí, především udržování správné koncentrace glukózy v krvi. Funkce inzulinu se nevztahuje pouze na metabolismus sacharidů, ale ovlivňuje i metabolismus lipidů a proteinů. Vlivem inzulinu dochází k inhibici hormonálně senzitivní lipázy, která rozkládá TAG v tukové tkáni na glycerol a MK. Volné MK jsou poté transportovány do krve. Inzulinová rezistence je stav, kdy během akumulace tukové tkáně dochází k hypertrofii adipocytů a takto pozměněné adipocyty jsou rezistentní k lipogenetickému účinku inzulinu. Tento děj způsobí poruchu účinku inzulinu, a to zejména v kosterním svalu, tukové tkáni, srdci a játrech. Tělo kompenzuje nedostatečný účinek inzulinu další syntézou hormonu a tím dochází ke zvyšování plazmatických hladin inzulinu a ke stavu zvanému hyperinzulinémie. Inzulinová rezistence má za následek zvýšení lipolýzy, zvýšení hladin mastných kyselin v krvi a triacylglycerolů v krvi. Mastné kyseliny a triacylglyceroly jsou dále ukládány v jaterní tkáni. Zvyšuje se také koncentrace lipoproteinů o nízké hustotě (LDL) v krvi, a naopak se snižuje koncentrace lipoproteinů o vysoké hustotě (HDL). Hlavním rizikovým faktorem pro rozvoj inzulinové rezistence je obezita. Inzulinová rezistence bývá nejčastěji spjata s nevysvětlitelným vzrůstem hodnoty alaninaminotransferázy (ALT) [12,13].

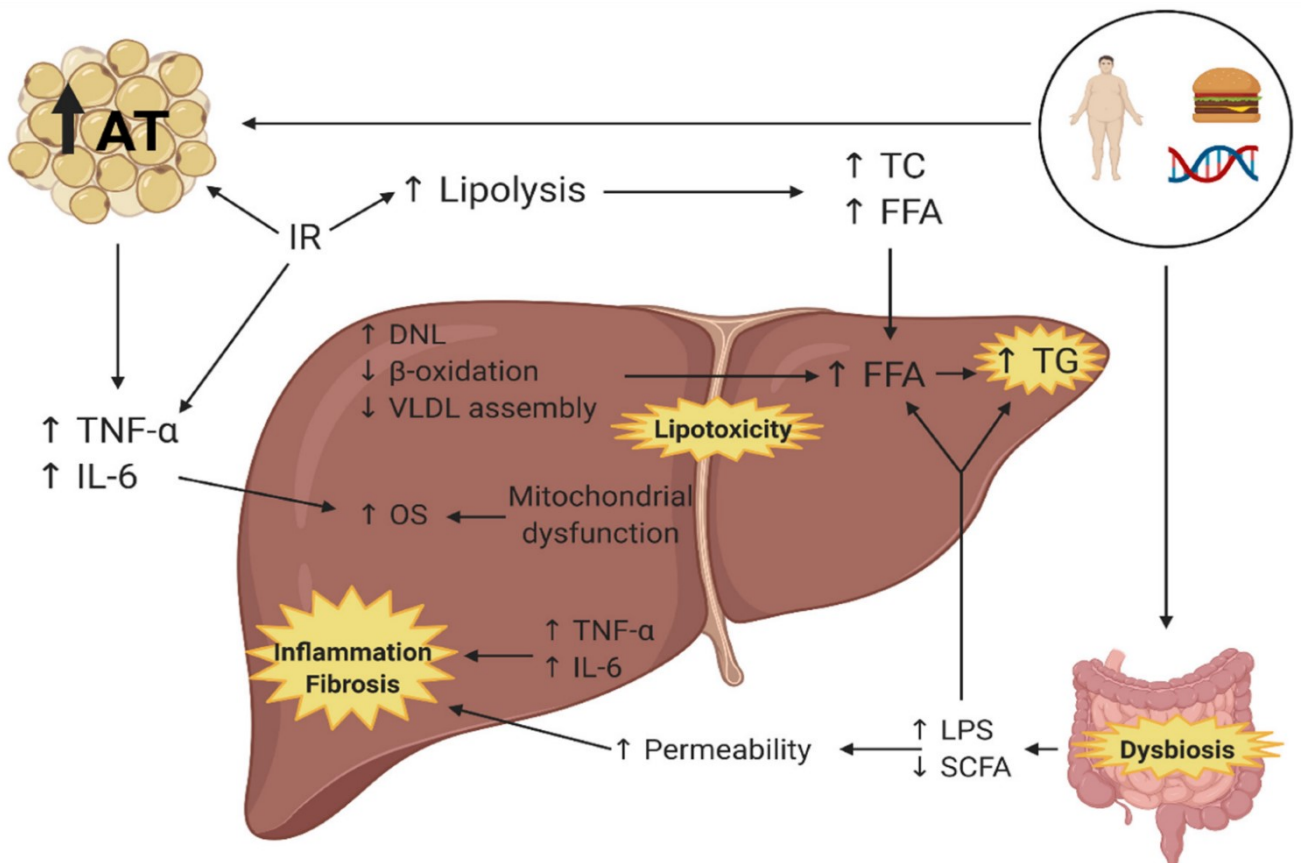
### **5.2.3. OXIDAČNÍ STRES**

Porušením rovnováhy mezi vznikem a odstraněním reaktivních forem kyslíku (ROS) vzniká pro buňky stresová situace nazývaná oxidační stres. Rozvoj oxidačního stresu způsobuje zvýšenou tvorbu ROS, které souvisí se zánětlivou reakcí v hepatocytech. Zvyšující se koncentrace mastných kyselin v organismu inhibuje aktivitu mitochondriálního dýchacího řetězce, což vede k tvorbě ROS, mezi něž patří volné radikály i některé neradikálové sloučeniny, ze kterých mohou volné radikály vzniknout (Obr. 4). Produkované ROS mohou způsobit oxidaci nenasycených mastných kyselin a aktivovat peroxidaci tuků, tento proces je řízen PPAR $\alpha$ . Oxidace probíhá v mitochondriích, které poskytují zdroj ATP. Dalším mechanismem zvyšujícím oxidační stres je zvýšená aktivita cytochromu P4502E1. Oxidační stres je velmi významným faktorem, který podporuje zánět a progresi onemocnění. [14] Vliv oxidačního stresu na jaterní funkce je uveden v Obr. 5.



Obrázek 4: Vznik reaktivních forem kyslíku [15]

SOD: superoxididismutáza



Obrázek 5: Patogeneze vzniku NAFLD [16]

AT: Tuková tkáň, IR: Inzulínová rezistence, OS: Oxidační stres, DNL: De novo lipogeneze, FFA: volné mastné kyseliny, TG: Triacylglyceroly, TC: Celkový cholesterol, LPS: Lipopolysacharidy, SCFA: Mastné kyseliny s krátkým řetězcem.

#### **5.2.4. IMUNITNÍ ODPOVĚĎ**

Tuková tkáň je jednou z vysoce aktivních endokrinních tkání, která ze svých buněk produkuje řadu hormonů. Mezi tyto hormony patří adipokiny, které ovlivňují metabolické děje a hrají významnou roli ve vývoji zánětu. Dále je tuková tkáň infiltrována řadou imunitních buněk, které produkují prozánětlivé cytokiny. Produkce a účinek adipokinů a cytokinů v jaterní tkáni spolu úzce souvisí a navzájem se mezi sebou ovlivňují. To může mít za důsledek ovlivnění průběhu inzulinové rezistence a rozvoj NAFLD. Během obezity dochází k zmnožení tukové tkáně a tím se zvyšuje koncentrace volných mastných kyselin. Tento děj má za následek destabilizaci lyzozomů, z nichž se uvolňuje katepsin B a dochází k aktivaci nukleárního faktoru kappa B (NF- $\kappa$ B). NF- $\kappa$ B aktivuje adipokiny a významně zvyšuje produkci TN- $\alpha$  a prozánětlivých cytokinů (IL-1 a IL-6). Zvýšené množství tukové tkáně tedy vyvolává zvýšenou syntézu adipokinů a ovlivňuje imunitní buňky nacházející se v jaterní tkáni. Celý tento proces vede k aktivaci imunitních a hvězdicovitých buněk. Hvězdicovité buňky následně začínají syntetizovat nadměrné množství kolagenu a tím dochází k fibrotizaci jater. Poškození způsobené adipokiny tedy přispívá k rozvoji steatózy a může vést až k progresi do stádia fibrózy. Volné mastné kyseliny také ovlivňují expresi FAS molekul (receptorů smrti) na povrchu hepatocytů, které mohou interagovat s ligandy, a to má za následek buněčnou smrt hepatocytů [1, 17].

#### **5.2.5. METABOLISMUS LIPIDŮ**

Narušení rovnováhy metabolismu lipidů způsobuje zvýšené ukládání tuků v játrech a hepatotoxicitu. Obezita a inzulinová rezistence ovlivňují metabolismus lipidů v našem organismu. Obezita hraje významnou roli při vzniku inzulinové rezistence. Inzulinová rezistence poté vede k lipolýze, mobilizaci volných mastných kyselin a aktivaci transkripčního faktoru SREBP1 (*sterol regulatory element binding protein 1*). Jedná se o transkripční faktory zapojené do regulace syntézy cholesterolu. Inzulinem aktivovaný SREBP způsobuje zvýšení lipogeneze, což játrům umožňuje syntetizovat nové mastné kyseliny. Nově syntetizované MK jsou dále metabolizovány a následně skladovány ve formě TAG nebo VLDL částic. Zvýšená lipogeneze tímto způsobem může vyvolat jak steatózu, tak i steatohepatitidu neboť některé MK mohou způsobit zánět a apoptózu. SREBP také vede ke zvýšené syntéze a akumulaci cholesterolu v játrech. Exprese tohoto proteinu je tedy zvýšena u pacientů s NAFLD [1].

### **5.3. HISTOPATOLOGIE**

Z morfologického hlediska zahrnuje NAFLD spektrum jaterních poruch, které začínají benigním ztukovatěním jater (prostou steatózou), pokračují přes steatohepatitidu (NASH) s výraznými zánětlivými změnami až do pokročilé jaterní cirhózy, případně i hepatocelulárního karcinomu. V současnosti je pro NAFLD navrhován název lipotoxická jaterní nemoc. Tento název podtrhuje význam hlavního patofyziologického mechanismu choroby, jímž je toxicita volných MK [11].

#### **5.3.1. Nealkoholická steatóza**

Steatóza neboli ztučnění jater je onemocnění, které není doposud přesně definované. Podle konference AASLD je jaterní steatóza charakterizována jako akumulace tuků (převážně TAG) v jaterních buňkách. Tato akumulace může přesahovat 5–10 % hmotnosti jater, a to bez konzumace většího množství alkoholu (do 20 g ethanolu/ den). Tuk se v játrech akumuluje v podobě tukových kapének. Jedná se o první stupeň poškození jater. Bývá spojena s onemocněním diabetes mellitus 2. typu, obezitou i genetickými faktory. Je považována za benigní onemocnění a lze ji diagnostikovat běžnými zobrazovacími metodami. Podle morfologického hlediska můžeme rozlišovat steatózu velkokapénkovou (makrovezikulární), která se vyskytuje častěji a u tohoto typu se v jaterní buňce vyskytuje jedna velká vezikula tuku, která postupně vytlačuje jádro. Druhým typem je malokapénková (mikrovezikulární) steatóza. Vyskytuje se vzácněji a v tomto případě se v hepatocytech nachází větší množství tukových vezikul a hepatocyty se postupně mění na lipocyty. Dochází pouze k mírné změně v jaterní tkáni. Toto stádium se neprojevuje klinickými symptomy. Vede k rozvoji inzulínové rezistence a produkci prozánětlivých cytokinů [5, 7].

#### **5.3.2. Nealkoholická steatohepatitida**

Nealkoholická steatohepatitida (NASH), představuje zhruba 10–20 % případů NAFLD. Jedná se o pokročilou, aktivní a progresivní formu NAFLD, kdy kromě akumulace tuků dochází k rozvoji lobulárního zánětu a hepatocelulárnímu balonování. Porucha utilizace mastných kyselin vede k omezení  $\beta$ -oxidace ke snížení produkce energie a vyvolává vznik oxidačního stresu. Rozvoj NASH zahrnuje apoptózu, zánět a oxidační stres. Nealkoholická steatohepatitida může vyústit až v ireverzibilní poškození jater. V současné době je upřednostňována představa více zásahů („*multiple hit theory*“), kdy první zásah (např.: dysregulace lipidového metabolismu nebo inzulínová rezistence)

způsobí vznik prosté steatózy. Hepatocyty se tak stávají citlivější k působení dalších paralelních zásahů (např.: oxidačnímu stresu, prozánětlivému stavu a mitochondriální dysfunkci), což vede k rozvoji NASH a cirhózy [1, 5, 7,]. Histopatologické změny jaterní tkáně v průběhu progresu prosté steatózy a steatohepatitidy jsou zobrazeny na Obr.6.

### 5.3.3. Histopatologické hodnocení NAFLD/NASH

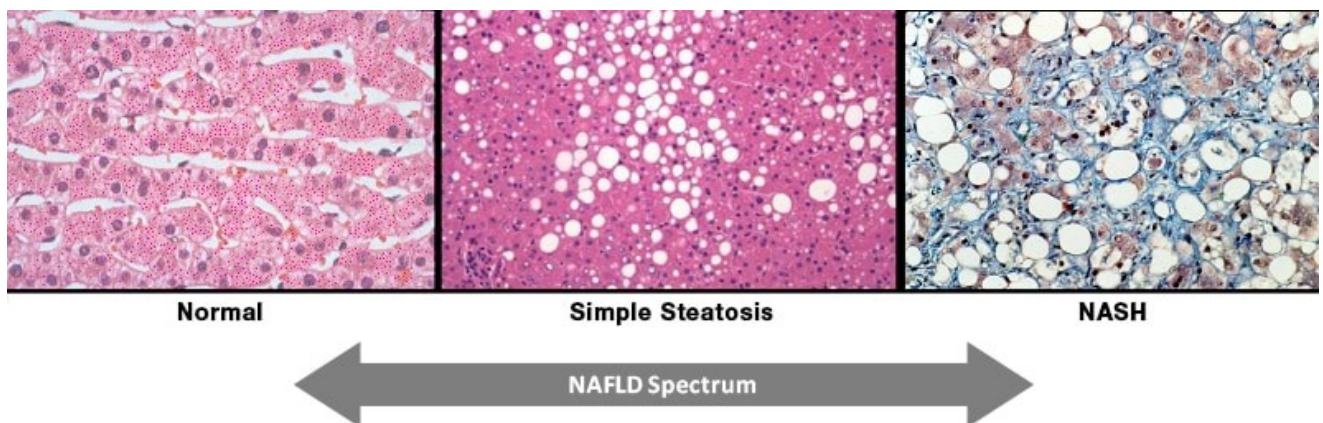
Pro histopatologické hodnocení NAFLD/NASH se nejčastěji používá tzv. Kleinerova klasifikace. Jedná se o systém, který byl navržen pro kvantitativní hodnocení zánětlivých změn (grading) a stupeň fibrózy (staging). K tomuto hodnocení se používá histologická klasifikace intenzity změn. Klasifikace je rozdělena do 4 tříd [1, 11].

Grading:

1. prostá steatóza
2. steatohepatitida – steatóza s lobulárním zánětem
3. přítomnost regresivních balónovitých změn hepatocytů – jedná se o tzv.: otok hepatocytů
4. přítomnost Malloryho-Denkova hyalinu

Staging:

1. fokální nebo difúzní fibróza v zóně 3
2. stejné jako 1. třída, navíc se připojuje ložisková nebo difúzní portální fibróza
3. přemost'ující fokální nebo difúzní fibróza
4. cirhóza



Obrázek 6: Histologické změny v jaterní tkáni v průběhu NAFLD [19]



## **6 VYŠETŘOVACÍ METODY V HEPATOLOGII**

Průběh nealkoholové steatózy a steatohepatitidy je většinou asymptomatický. Onemocnění je většinou zjišťováno na základě vyšetření pro jiné obtíže nebo u screeningu metabolického syndromu a diabetu mellitu. V rámci diferenciální diagnostiky je třeba vyloučit jiné příčiny poškození jaterní tkáně – alkoholové poškození jater, chronickou hepatitidu C, hereditární hemochromatózu, Wilsonovu chorobu nebo polékové poškození. Většina pacientů může trpět pouze steatózou, ale část pacientů může dospět až do stádia jaterní cirhózy i s jejími komplikacemi, a proto je důležité najít způsob, kterým lze odlišit jednotlivá stádia NAFLD. Mezi vyšetření jaterní tkáně se řadí invazivní a neinvazivní techniky [1, 20].

### **6.1. INVAZIVNÍ VYŠETŘOVACÍ TECHNIKY**

#### **6.1.1. JATERNÍ BIOPSIE**

Během biopsie dochází k odebrání vzorku tkáně tenkou jehlou a následnému histologickému vyšetření. V hepatologii se jedná o jednu z nejpřesnějších metod. Rozlišujeme biopsii cílenou, kdy dochází k přesnému určení místa odběru pomocí ultrazvuku (vzorek je odebírán z určité části jater) a necílenou jaterní biopsii, kdy je vzorek odebírán z kterékoliv části jater. Biopsie se používá v případě, kdy je zapotřebí znát přesné stádium onemocnění, před samotným zahájením léčby anebo v případě, že není možno stanovit přesnou diagnózu jiným způsobem. Pro diagnostiku NAFLD představuje tato metoda zlatý standard. Pomocí biopsie jaterní tkáně a jejího následného histologického hodnocení lze od sebe odlišit jednotlivá stádia NAFLD. Biopsie také pomáhá vyloučit přítomnost jiných jaterních onemocnění. Dále slouží k hodnocení zánětlivých změn a určení stupně fibrózy. Tato metoda se však vyznačuje řadou nevýhod. Hlavní nevýhodou je především její invazivita a existuje i několik dalších rizik, například chybný odběr vzorku nebo krvácení. V některých případech patolog není schopen s přesností odlišit, o jaké stádium NAFLD se jedná [20-23].

### **6.2. NEINVAZIVNÍ VYŠETŘOVACÍ TECHNIKY**

Mezi dostupné neinvazivní testy používané k diagnostice steatózy a NASH patří klinické příznaky a symptomy, radiologické zobrazovací testy a výsledky krevních testů. Tyto testy však nejsou dostatečně přesné k odlišení prosté akumulace tuků od NASH a mají

omezené použití. Jedním ze základních klinických nálezů u NAFLD bývají hepatomegalie a v laboratorním stanovení je zjištěna vyšší aktivita aminotransferáz – alaninaminotransferázy (ALT) a aspartátaminotransferázy (AST) v krvi.

### **6.2.1. ZOBRAZOVACÍ TECHNIKY**

Zobrazovací metody pro diagnostiku NAFLD využívají speciální ultrasonografii nebo zobrazení magnetickou rezonancí (transientní elastografie, MRI elastografie). Tyto metody se používají ke stanovení přesného stupně steatózy nebo fibrózy a poskytují přesnou informaci o obsahu tuku v jaterní tkáni. Nelze je však použít pro detekci NASH. Tuk může být během steatózy ukládán difuzně anebo lokálně. Zobrazovací diagnostika je důležitá k rozpoznání těchto steatotických ložisek v játrech. Při ultrasonografickém vyšetření je detekována zvýšená echogenita neboli odrazivost jaterního parenchymu. V obrazech CT nastává pokles denzity jater pod hodnotu 30 HU a v některých případech mohou být hodnoty i záporné. V průběhu MR detekujeme zvýšení T1 signálu při významném tukovém postižení jaterní tkáně [1, 21].

#### **6.2.1.1. Ultrasonografie**

Jedná se o nejběžnější vyšetřovací metodu používanou k diagnostice jaterní steatózy. Ultrasonografie má vysokou specifitu a senzitivitu (90 %). Mezi její hlavní výhody patří dostupnost, metoda není invazivní, jedná se o relativně levné vyšetření, které lze snadno opakovat. Využívají se dvě metody vyšetření, první je dynamická dvourozměrná ultrasonografie (B-mode), pomocí této metody můžeme zobrazit jednotlivé anatomické útvary, čímž umožňuje detekci i charakterizaci ložiskových změn v jaterní tkáni. Druhým typem je Dopplerovská ultrasonografie, pomocí které se hodnotí směr a rychlost průtoku krve v cévním řečišti. Dopplerovská sonografie má nejvyšší senzitivitu pro stanovení počtu ložisek. Pomocí ultrasonografie můžeme pozorovat difuzní nebo ložiskové změny v játrech, jejichž intenzita je závislá na stupni steatózy [1, 15, 16].

#### **6.2.1.2. Magnetická rezonance a výpočetní tomografie**

Výpočetní tomografie (CT) je metoda využívající pro zobrazení tkání rentgenových paprsků. Metoda CT je přednostně používána pro kvantitativní měření změny denzity tkáně. Pro zobrazení patologických změn je nutné nitrožilní podání jodové kontrastní látky. Po podání kontrastní látky dochází k poklesu hustoty jater. Nevýhody této metody je radiační zátěž a možná nežádoucí reakce na kontrastní látku (alergie). Magnetická rezonance (MR) patří mezi metody řízené počítačem, a využívá rotujících protonů.

Vyznačuje se lepší senzitivitou pro zobrazení ložiskových změn jaterní tkáně (80 – 100 %) z důvodu lepšího tkáňového kontrastu. Při vyšetřování jater MR se používají relaxační časy T1 (narůstá podélná relaxace) a T2 (úbytek příčné relaxace), kdy oba děje probíhají vždy současně, ale měřit můžeme jen jeden z nich. Možnost, jak nejlépe detekovat tuková ložiska je použití obrazu ve fázi a mimo fázi, kdy se mění vzájemná fáze tuků a vody. Při MR je nutné použít kontrastní látku, která se krevní cestou dostává do jater a zde je vychytávána hepatocyty [1, 25].

### **6.2.1.3. Elastografické metody**

Používají se jako metody doplňkové, které zvyšují specifitu diagnostiky. Jedná se o ultrasonografické vyšetření doplněné měřením stupně tuhosti jaterní tkáně. Elastografie se provádí při podezření na rozvoj vaziva v jaterní tkáni při diagnostice jaterní fibrózy. V některých případech může toto vyšetření nahradit biopsii jater. Existuje také elastografie ve spojení s magnetickou rezonancí (*MR-elastografie*). Rozlišujeme dva typy elastografie – první je statická ultrazvuková elastografie (*strain imaging*), která určuje elastické vlastnosti jaterní tkáně podle rozdílu UZ signálu před a po kompresi tkáně. Druhým typem je dynamická ultrazvuková elastografie (*shear wave imaging*), která je založena na stříhových vlnách. Tyto vlny jsou odezvou na mechanické vibrace. Obě metody s vysokou spolehlivostí diagnostikují pokročilou jaterní fibrózu [1, 20, 24].

## **6.3. MARKERY JATERNÍHO ONEMOCNĚNÍ**

Mezi široké spektrum laboratorních vyšetření jaterních nemocí patří biochemické vyšetření, tzv.: jaterní testy. Biochemické testy jsou rozděleny a provádějí se podle typu poruchy jater. Mezi ukazatele poškození hepatocytů patří aspartátaminotransferáza (AST), alaninaminotransferáza (ALT), glutathion-S-transferáza (GST) a  $\gamma$ -glutamyltransferáza (GGT). Důležitá je koncentrace těchto enzymů v krvi a kam jsou z jater uvolňovány. Pacienti s NAFLD mívají vyšší jaterní testy, ale v některých případech jsou hodnoty u pacientů s NAFLD v normě a z tohoto důvodu nejsou transaminázy spolehlivým indikátorem akumulace tuků. Hladina ALT bývá obvykle vyšší, poměr  $AST/ALT > 2$  je typický pro alkoholovou steatohepatitidu. Pro NAFLD je charakteristické (až desetinásobné) zvýšení hladin  $\gamma$ -glutamyltransferázy (GGT) oproti normě. Hodnota BMI, která souvisí s obezitou je dalším možným faktorem používaných pro zjištění pozitivního nálezu jaterní steatózy. Není však vhodný jako samostatný ukazatel pro zjištění progresu do NASH [18, 20, 26].

### **6.3.1. AST a ALT**

AST a ALT jsou významnými a nejpoužívanějšími markery při posouzení funkce jater. K nárůstu jejich hladin v krvi dochází při poškození jaterní tkáně. ALT je zejména cytoplazmatický enzym, primárně se nacházející v játrech. K zvýšenému vyplavování do krve dochází při poškození buněčné membrány. AST můžeme dělit na dva izoenzymy – cytoplazmatický a mitochondriální. K uvolňování cytoplazmatické frakce do krve dochází i při mírném poškození jaterní tkáně, oproti tomu mitochondriální frakce se uvolňuje až při nekróze hepatocytů. AST je lokalizována ve více tkáních jako jsou srdce, ledviny játra a erythrocyty. Poměr těchto dvou enzymů (AST/ALT) je důležitý pro stanovení závažnosti poškození hepatocytů. U akutní nebo chronické hepatitidy a u toxického poškození jater se hodnoty aminotransferáz zvyšují až 20×. Hodnoty zvýšené méně než 3× poukazují na jaterní steatózu, NASH nebo chronické hepatitidy. Zvýšení hodnot AST je závažnější než zvýšení ALT [1,5].

### **6.3.2. $\gamma$ – GLUTAMYLTRANSFERÁZA**

Jedná se o membránově vázaný enzym nacházející se především v játrech, žlučovodech a ledvinách. V krvi můžeme prokázat pouze enzym nacházející se v játrech. Aktivita tohoto enzymu v séru je závislá na věku. Zvýšená koncentrace v séru se vyskytuje u hepatobiliárních onemocnění a je důležitým markerem cholestázy. Ačkoliv není asociace GGT s NASH zcela jasná, je vyšší hladina GGT spojena se zvýšenou mortalitou [1,5, 27].

## **6.4. SÉROVÉ MARKERY**

Zlatým standardem v diagnostice NAFLD je jaterní biopsie. V současné době neexistují neinvazivní diagnostické metody, které by byly schopny rozlišit mezi prostým ztučněním jater a potenciálně již progredující jaterní steatohepatidou. Rozlišení je důležité z hlediska sekundární prevence. Principem sekundární prevence je včasné diagnostikování onemocnění, aby se zabránilo progresi asymptomatického onemocnění. Z tohoto důvodu je potřeba najít efektivní a spolehlivý ukazatel (biomarker), který napomůže spolehlivě a přesně rozeznat steatózu od NASH a jehož hodnoty by přímo souvisely s progresí onemocnění. Sérové markery nebo také biomarkery zahrnují celou řadu molekul a enzymů, které svou přítomností poukazují na poškození jater nebo přítomnost daného onemocnění, především fibrózy. Monitorování biomarkerů se v hepatologii může využívat jak k časně diagnostice, tak k monitorování léčby či progresi daného onemocnění. Bylo testováno spektrum látek krevního séra – metabolity, lipidy,

proteiny, nukleové kyseliny (DNA, RNA) u většiny se však neprokázala dostatečná specifická a senzitivita pro diagnostiku NASH a žádné z těchto biomarkerů nebyly validovány [22]. Srovnání výhod a nevýhod jaterní biopsie a sérových markerů je uvedeno v Tab. 1.

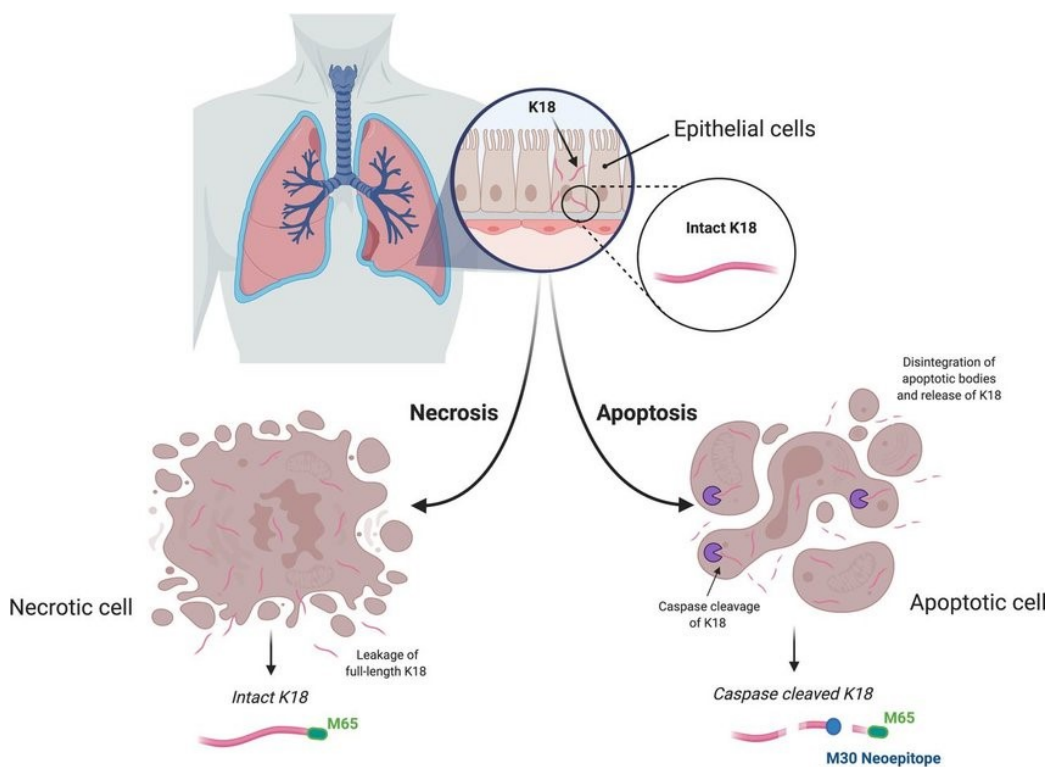
JATERNÍ BIOPSIE	SÉROVÉ MARKERY
zlatý standard v diagnostice a stagingu NAFL/NASH	většina nebyla dostatečně validována
nevýhody	výhody
invazivní zákrok	nutný pouze odběr krve
riziko závažných komplikací	dostupné praktickým lékařům
vysoké náklady	relativně levné
nevýtěžnost (chybný odběr vzorku)	lepší možnost opakování
subjektivita hodnocení patologem	u některých výsledky potvrzeny validačními studií

Tabulka 1: Porovnání výhod a nevýhod jaterní biopsie a sérových markerů [13]

#### 6.4.1. BIOMARKERY APOPTÓZY

U NASH dochází k poškození jater v důsledku zvýšené míry apoptózy a hlavním biomarkerem tohoto procesu je cytokeratin-18 (CK 18). Jedná se o hlavní protein intermediárních filament v játrech. Apoptóza hepatocytů je vysoce organizovaná a geneticky kontrolovaná forma buněčné smrti. V důsledku apoptózy dochází k aktivaci a uvolňování enzymů kaspáz, především efektorové kaspázy 3 (provádí aktivaci samotného procesu apoptózy), které následně štěpí různé substráty včetně cytokeratinu-18. Kaspázy patří do skupiny proteolytických enzymů, významně se podílejí v procesu apoptózy nebo zánětu. V našem těle se vyskytují v neaktivní formě a po spuštění apoptotického procesu dochází k jejich kaskádovité aktivaci. Následně po rozštěpení cytokeratinu dochází k uvolňování fragmentů CK-18 do krve. Uvolněné fragmenty jsou snadno měřitelné ELISA testem, kdy je lze stanovit prostřednictvím antigenů M30 a M65. Antigeny souvisí s rozsahem apoptózy hepatocytů a s přítomností

CK-18. Oba antigeny pochází ze stejného proteinu (tedy CK-18), ale existuje mezi nimi mechanický rozdíl: M30 slouží ke stanovení fragmentů CK-18 a poukazuje na apoptickou aktivitu, zatímco M65 detekuje jak kaspázami-vytvořené fragmenty, tak neštěpený CK-18 uvolněný z buněk při nekróze (Obr. 7). Senzitivita CK-18 je 66 % a celková specifita až 82 %. Mnohé studie prokazují, že plazmatická hladina CK-18 souvisí s mírou progresu NASH. Podle testů s kaspázou-generovanými fragmenty CK-18 v plazmě pacientů bylo zjištěno, že dochází k významnému zvýšení hladin u pacientů s NASH oproti zdravým jedincům. Vzhledem k tomu, že k apoptóze dochází především u NASH, ale ne u prosté steatózy může přítomnost fragmentů CK-18 pomoci k odlišení těchto stádií NAFLD [28-31].



Obrázek 7: Stanovení cytokeratinu 18 (CK18) a jeho fragmentů pomocí antigenů M30 a M65 [32]

## 6.4.2. LIPIDOVÉ SPEKTRUM

Během steatózy dochází ke zvýšení akumulace specifických TAG a abnormální regulaci lipidového mechanismu. Vybrané TAG by se mohly uplatnit jako marker diagnózy a progresu jaterní steatózy pomocí lipidové analýzy. Podle studie uvedené v oficiálním časopisu Americké asociace pro studium jaterních chorob (AASLD) - HEPATOLOGY COMMUNICATIONS, (VOL. 2, No. 7, 2018) by sérové lipidomické profilování mohlo dokázat přesné odlišení prosté jaterní steatózy od zdravých jater a také spolehlivě

diagnostikovat pacienty s rozvinutým NASH. TAG je možné detekovat v séru pacientů pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC/MS). Hmotnostní spektrometrie umožňuje současně měřit až stovky lipidových tříd. K vyšetření je zapotřebí pouze analyzátor, žilní sérum pacienta a hodnota BMI [33].

### **6.4.3. ADIPOKINY A CYTOKINY**

Zvýšená akumulace tuků má za následek zvýšenou produkci adipokinů a prozánětlivých cytokinů z adipocytů. Mezi hlavní látky související s rozvojem NAFLD patří adiponektin, leptin rezistin a TNF- $\alpha$ . Adiponektin je nejlépe prozkoumaným adipokinem v patogenezi NAFLD. V organismu má antisteatotický, protizánětlivý účinek a snižuje inzulinovou rezistenci. Snížené hladiny tedy nacházíme u pacientů s obezitou, metabolickým syndromem a diabetem mellitu 2. typu. Oproti tomu TNF- $\alpha$  má prozánětlivý účinek, zvyšuje inzulinovou rezistenci a má nepříznivé účinky vedoucí ke vzniku NAFLD. Hladina TNF- $\alpha$  se zvyšuje s expanzí tukové tkáně. Hladiny těchto látek cirkulující v plazmě by mohly s průměrnou přesností sloužit k diagnostice steatózy a sérového adiponektin by se mohlo používat k rozlišení mezi steatózou a NASH [1, 11,20, 34].

#### **6.4.3.1. Leptin**

Leptin patří mezi prozánětlivé adipokiny produkované buňkami tukové tkáně. Hraje velmi důležitou roli v centrálním řízení energetického metabolismu a obezity. Hladina v séru odráží celkový obsah tukové tkáně a snižuje se spolu s indexem tělesné hmotnosti. Lidé trpící obezitou tedy tvoří více leptinu než lidé bez obezity. Vyznačuje se pleiotropním účinkem v biologických procesech. V časných fázích NAFLD působí antisteatotickým účinkem. Pokud dojde k progresi onemocnění začíná působit prozánětlivým a fibrotickým účinkem. Dále zvyšuje tvorbu ROS a tvorbu prozánětlivých cytokinů. U pacientů s NAFLD bylo zjištěno zvýšení sérového leptinu. Leptin spolu s adiponektinem by se mohly zařadit mezi užitečné biomarkery pro diagnostiku NAFLD. Leptin by také mohl sloužit jako potenciální biomarker pro odlišení pacientů s NAFLD od zdravých jedinců [25, 26].

#### **6.4.3.2. Rezistin**

Jedná se o hormon vytvářený v adipocytech a imunitními buňkami (makrofágy a monocyty). Produkce je stimulována zánětlivými cytokiny. Rezistin ovlivňuje především

senzitivitu vůči inzulinu. Jeho exprese je intenzivnější u pacientů s diabetem mellitu 2. typu a také jeho produkce roste s progresí poškození jaterní tkáně [27].

## **6.5. GENETICKÉ MARKERY**

### **6.5.1. GENOVÉ MUTACE**

Genetika a epigenetika hrají významnou roli ve vývoji NAFLD. Studie dokazují, že příbuzní pacientů s trpící tímto onemocněním jsou vystaveni mnohem většímu riziku vzniku onemocnění než běžná populace. Z genetických faktorů se na vzniku onemocnění podílí jednonukleotidové polymorfismy (SNP) obsahující patatinovou doménu fosfolipázy. Řadíme sem geny PNPLA3 (*Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3*) a TM6SF2 (*Transmembrane 6 Superfamily Member 2*). Gen PNPLA3 se nachází na dlouhém raménku 22. chromozomu a kóduje adiponutrin. Adiponutrin je TAG-lipáza, která zprostředkovává hydrolyzu TAG v adipocytech. Varianta I148M PNPLA3 je odolná vůči degradaci a akumuluje se na tukových kapénkách. U nosičů genetické alely PNPLA3 rs738409C>G p.I148M je NAFLD nezávislá na přítomnosti diabetu mellitu, inzulinové rezistence či obezity a má tendenci progredovat do NASH s rizikem vzniku jaterní cirhózy a hepatocelulárního karcinomu. Genetická varianta PNPLA3 rs738409 C>G p.I148M je nejsilnějším genetickým faktorem spjatým s rizikem NAFLD. TM6SF2 se nachází na chromozomu 19 a podílí se na sekreci lipoproteinů z hepatocytů. V důsledku zvýšení koncentrace TAG a tukových kapének dochází k inhibici jeho aktivity a tím se naruší produkce VLDL. Jedná se o významný faktor rozvoje NAFLD. SNP TM6SF2 rs58542926 C>T p.E167K je mutace spojená se ztrátou funkce. Tato varianta je silně asociovaná s rozvojem jaterní steatózy, progresí do NASH, cirhózy a hepatocelulárního karcinomu [20, 37].

## **6.6. MARKERY JATERNÍ FIBRÓZY**

Markery můžeme rozdělit do dvou skupin na: markery 1. třídy a markery 2. třídy.

**Markery 1. třídy** patří mezi tzv. nerutiní markery a jejich použití vychází z poznatků o procesu fibrogenese. Jedná se o součásti mezibuněčné hmoty, které jsou secernovány aktivovanými hvězdicovitými buňkami. Do této skupiny řadíme kyselinu hyaluronovou, laminin, undulin, N-terminální peptid kolagenu 3 a  $\alpha$ -2-makroglobulin. Nejvíce se v diagnostice uplatňují kyselina HA a A2M. HA je v játrech produkována hvězdicovitými buňkami a v játrech také dochází k její eliminaci. V normálně fungujících játrech je koncentrace HA nízká. Při vzniku fibrózy stoupá její koncentrace až 10×. Nárůst sérové



hladiny HA poukazuje na zvýšenou aktivitu hvězdicovitých buněk. A2M patří mezi proteiny akutní fáze, který je produkován hepatocyty a aktivovanými Itovými buňkami. Zvýšená syntéza tohoto markeru negativně ovlivňuje katabolismus proteinů a tím zvyšuje progresi fibrózy [29].

**Markery 2. třídy** jsou odvozeny od standardních laboratorních testů. Tyto markery se v průběhu fibrózy mění, ale nesouvisí přímo s její progresí. Používají se pro detekci fibrózy, grading a staging jaterního onemocnění prostřednictvím matematických modelů. V minulosti byla navržena celá řada různých kombinací parametrů, včetně ukazatelů nekrózy (např. AST, ALT), koagulačních testů, stanovení transportních proteinů či bilirubinu [38].

## 6.7. SKÓROVACÍ SYSTÉMY

### 6.7.1. SKÓROVACÍ SYSTÉMY JATERNÍ FIBRÓZY

Diagnostickou specificitu jednotlivých markerů můžeme zvýšit jejich kombinací v různých skóre. Jednotlivá skóre umožňují s přesností určit stupeň jaterní fibrózy, ale nemají dostatečnou specificitu pro rozlišení mezi steatózou a NASH. Mezi skórovací systémy NAFLD řadíme FibroTest, NAFLD skóre fibrózy, FIB-4, ELF, BAAT skóre a BARD skóre. Veškeré testy vyžívají ke stanovení fibrózy kombinaci více biochemických markerů. Mezi biochemické markery řadíme kombinaci věku, pohlaví a jaterních enzymů (např.: ALT, A2M, haptoglobin). FibroTest se používá k určení úrovně fibrózy a také skóre nekrozánětlivé aktivity (Tab. 2). BARD skóre se používá pro stanovení pokročilé fibrózy. BAAT skóre slouží k identifikaci rizika rozvoje fibrózy u obézních pacientů. Nejvíce se používá NAFLD skóre fibrózy, jelikož má velmi vysokou specificitu i senzitivitu [1, 39].

*Tabulka 2: Stádia fibrózy podle FibroTestu [40]*

<b>FibroTest Score</b>	<b>Stádium fibrózy</b>	<b>Hodnocení</b>
0.00-0.21	F0	bez fibrózy
0.27-0.31	F1	minimální rozvoj fibrózy
0.48-0.58	F2	mírný rozvoj fibrózy
0.58-0.72	F3	pokročilá fibróza
0.74-1.00	F4	závažná fibróza až cirhóza

## **6.7.2. SKÓROVACÍ SYSTÉMY JATERNÍ STEATÓZY**

Pro detekci steatózy bylo navrženo několik skórovacích systémů, mezi které patří SteatoTest [41], Fatty liver index [42] a NAFLD activity score [43].

### **6.7.2.1. *SteatoTest***

Jedná se o panel biomarkerů s prediktivními hodnotami pro opakovanou diagnostiku steatózy. Tento patentovaný algoritmus kombinuje celkem 12 parametrů (6 z nich je součástí FibroTest) a to: sérové hladiny A2M, apoA1, haptoglobinu, ALT, GGT, celkového cholesterolu, TAG, celkového bilirubinu a glukózu na lačno, BMI, věk a pohlaví [41].

### **6.7.2.2. *Fatty liver index***

Jedná se o jednoduchý algoritmus, pomocí něhož je možné stanovit výskyt jaterní steatózy. Je založený na kombinaci BMI, obvodu pasu a sérových hladin TAG a GGT. Jedná se o jednoduchou a neinvazivní metodu, která může být použita opakovaně, a díky tomu může být vhodnou metodou odrážející dynamické změny v progresi NAFLD [42].

### **6.7.2.3. *NAFLD activity score***

*NAFLD activity score* je založeno na semikvantitativním histologickém hodnocení steatózy, lobulárního zánětu a hepatocelulární balonování a pohybuje se v rozmezí 0-8. Nejprve by měla být stanovena diagnóza NASH (nebo alternativně ztukovatění jater), poté se *NAFLD activity score* použije ke klasifikaci stupně onemocnění. Senzitivita a specifická *NAFLD activity score* pro histologickou diagnostiku NASH při hodnotě 5 a více byla 57 %, respektive 95 %. Je jedním z mála externě validovaných systémů pro hodnocení NAFLD [43,44].

## 7 LÉČBA

Prostá steatóza jako samostatné onemocnění zvyšuje rizika zdravotního stavu pacienta jen málo. Ve spojení s jinými stavy, které jsou patologicky závažné jako např.: diabetes mellitus 2. typu, obezita a hypertenze, jsou často doporučována režimová a dietní opatření. Tato opatření zabraňují progresi steatózy do závažnějších stádií. U progresivní formy NAFLD se však již vyskytují závažné důsledky onemocnění a je proto potřeba zahájit léčbu. Léčebné postupy souvisejí s patofyziologickými mechanismy, které hrají důležitou roli při vzniku a pro rozvoj NAFLD a NASH. Tyto postupy lze rozdělit do tří okruhů: redukce hmotnosti, ovlivnění inzulinové rezistence a farmakoterapie [1].

### 7.1. Změna životosprávy

Jedná se o základ v léčbě NAFLD. Nezbytnou součástí je redukce tělesné hmotnosti a tělesné cvičení. Obě složky vedou ke snížení obsahu tělesného tuku, což má za následek zmenšení stupně steatózy a snížení inzulinové rezistence. Není důležité, o jaké cvičení se jedná, ale podstatné je zvýšení podílu svalové tkáně, což vede k úbytku tuku v jaterní tkáni a zmírnění zánětlivých změn. Redukce tělesné hmotnosti pomocí diet vede k poklesu aktivity aminotransferáz, úbytku obsahu tuku v jaterní tkáni, ústupu zánětlivých a nekrotických změn, ústupu metabolických změn v hepatocytech a dokonce i ke zmírnění fibrózy. Doporučuje se omezení energetického příjmu na 30–35 kcal/kg/den. Léčbou obezity s dlouhodobým účinkem je bariatrická chirurgie. Jedná se o restriční nebo malabsorpční chirurgické zákroky, kdy dochází buď k operačnímu omezení žaludku (např.: bandáž žaludku) nebo změně dráhy potravy ve střevech (např.: jejunální diverze). Tyto operace se provádí laparoskopicky a jsou doporučovány pro pacienty s hodnotou BMI nad 35 [1,7, 45].

### 7.2. Ovlivnění inzulinové rezistence

Lékem první volby je metformin, který se využívá pro léčbu diabetu 2. typu u lidí s nadváhou. Dávka 2g/den významně ovlivňuje ALT a snižuje stupeň steatózy a zánětu v jaterní tkáni. Thiazolidindiony (glitazony) patří mezi inzulinové senzitizery, což znamená, že zvyšují citlivost tukových buněk a hepatocytů na inzulin [1].

### 7.3. Farmakoterapie

O tomto druhu léčby se uvažuje u pacientů, kterým se dlouhodobě nedaří změnit životní styl a snížit množství tělesného tuku anebo u pacientů s již pokročilou fibrózou. Doposud

nebyl objeven preparát, který by přímo působil na NASH, ale podle poznatků může být pro pacienty s NASH prospěšné podávání dvou léků, a to buď pioglitazonu nebo vitamínu E. Vitamin E zlepšuje histologické změny provázející NASH a pioglitazon vede ke snížení steatózy a zánětlivých změn. Používání těchto léčiv však má svá rizika a případná léčba by měla být u každého pacienta individuálně zvážena. Žádný jiný běžně dostupný preparát nebyl doposud dostatečně prokázán jako efektivní pro zlepšení histologických změn v játrech nebo léčbu NAFLD. V klinickém hodnocení je však momentálně řada léčiv, která zasahují do procesu vzniku NASH nebo do mechanismu fibrotizace (např. kyselina obeticholová, liraglutid, sitagliptin, cenicriviroc, simtuzamab, selonsertib a další) [1,7,11].

## 8 ZÁVĚR

Prevalence nealkoholové tukové choroby jater v dnešní době stále roste a stává se tak jednou z nejčastějších jaterních chorob na světě. Nárůst pacientů s tímto onemocněním je propojen i s vyšším výskytem obezity. Velmi často toto onemocnění probíhá asymptomaticky a než dojde k diagnostice onemocnění velmi často progreduje do závažnějších stádií a spolu s dalšími patologicky závažnými stavy ohrožuje zdraví pacienta. Pacienty s tímto onemocněním ohrožují také mimojaterními projevy, které tuto nemoc provází a jsou častou příčinou spojenou s morbiditou a úmrtím. Jaterní biopsie je jediným možným způsobem, jak s co nejvyšší přesností prokázat dané onemocnění. Jedná se však o invazivní diagnostickou metodu spojovanou s nepohodlím pacienta. Z tohoto důvodu roste snaha objevit nový, neinvazivní způsob diagnostiky, který by s vysokou přesností sloužil k včasné diagnostice onemocnění. Díky včasné diagnostice a odlišení stádia nemoci by se mohlo zabránit progresi onemocnění a výskytu vážných zdravotních stavů spojených s NASH. Jedním z těchto způsobů nových způsobů diagnostiky by mohly být sérové biomarkery. Tyto látky sebou v diagnostice přinášejí řadu výhod (např. nejsou invazivní, jsou snadno proveditelné a vyšetření se mohou opakovat). Biomarkery by v budoucnu mohly sloužit nejen pro diagnostiku nealkoholové tukové choroby, ale také k snadnému odlišení jednotlivých stádií. Biomarkery jaterního onemocnění jsou součástí mnoha studií a je jich objeveno stále více, ale zatím žádný kromě cytokeratinu-18 nebyl uveden do praxe. Vzhledem k výhodám, které by biomarkery mohly v diagnostice přinést doufám, že budou co nejdříve uvedeny do praxe.

## 9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] HŮLEK P. a URBÁNEK P. *Hepatologie*. 3. vydání. Praha: Grada Publishing, 2018, 768 s. ISBN 978-80-271-0394-2.
- [2] ČIHÁK R. *Anatomie 2*. 3. vydání. Praha: Grada Publishing, 2013, 512 s. ISBN 978-80-247-3817-8.
- [3] JIRSOVÁ Z. *GIT 1 játra a žlučové cesty - cytologie a funkční morfologie hepatocytu* [online]. Poslední revize 02.2014 [cit. 04/04/2022]. Dostupné z: <<https://docplayer.cz/12190699-Git-1-jatra-a-zlucove-cesty-cytologie-a-funkcni-morfologie-hepatocytu.html>>.
- [4] LEDVINA M., STOKLASOVÁ A. a CERMAN J. *Biochemie pro studující medicíny I. a II. díl*. 1. vydání. Praha: Karolinum, 2009, 546 s. ISBN 978-80-246-1414-4.
- [5] BERÁNEK M. a TICHÝ M. *Vybrané kapitoly z klinické biochemie: pro studijní program Zdravotnická bioanalýtika*. 1. vydání, Praha: Karolinum, 2013, 198 s. ISBN 978-80-246-2186-9.
- [6] *Triacylglyceroly v séru* [online]. Poslední revize 06.2021 [cit. 2022-05-07]. Dostupné z: <[https://www.nempt.cz/files/lab\\_prirucka/\\_LP\\_03025.htm](https://www.nempt.cz/files/lab_prirucka/_LP_03025.htm)>
- [7] BRŮHA R. Nealkoholové postižení jater při steatóze. *Vnitřní Lékařství*. 2019, **65**(9):571-575.
- [8] YOUNOSSI, Z. M., MARCHESINI G., PINTO-CORTEZ H. a PETTA S. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis: Implications for Liver Transplantation. *Transplantation*. 2019, **103**(1):22-27.
- [9] BELLENTANI S., SCAGLIONI F., MARINO M., BEDOGNI G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Digestive Diseases*. 2010, **28**(1):155-61.
- [10] YOUNOSSI Z. M. a HENRY L. The Global Burden of Non-alcoholic Steatohepatitis. *Archivos Cubanos de Gastroenterología*. 2020, **1**(1):1-22.
- [11] TRUNEČKA P. Nealkoholická steatohepatitida a možnosti její léčby. *Remedia*. 2007, **17**(4):367-371

- [12] KOJTA I., CHACÍŇSKA M. a BŁACHNIO-ZABIELSKA A. Obesity, Bioactive Lipids, and Adipose Tissue Inflammation in Insulin Resistance. *Nutrients*. 2020, **12**(5):1305.
- [13] HŮLEK P. a DRESSLEROVÁ I. Metabolický syndrom a játra (NAFLD/NASH). *Vnitřní Lékařství*. 2009, **55**(7-8):646-649.
- [14] NOVÁKOVÁ Z. *Moderní metody pro studium oxidativního stresu a poškození tkání*. Bakalářská práce. 2013. Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí, Přírodovědecká fakulta Masarykovy Univerzity, Brno.
- [15] GHOSH N., DAS A., CHAFFEE S., ROY S. a SEN C. K. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage and Cell Death, In: CHATTERJEE S., JUNGRAITHMAYR W. a BAGCHI D (Eds.) *Immunity and Inflammation in Health and Disease*, 1. vydání, Academic Press, 2018, str. 45-55. ISBN 9780128054178.
- [16] CASTILLO V., FIGUEROA F., GONZÁLEZ-PIZARRO K., JOPIA P. a IBACACHE-QUIROGA C. Probiotics and Prebiotics as a Strategy for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, a Narrative Review. *Foods*. 2021, **10**(8):1719.
- [17] POLYZOS S. A., KOUNTOURAS J. a MANTZOROS C. S. Adipokines in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016, **65**(8):1062-79.
- [18] HORÁK J. a EHRMANN J. *Hepatologie do kapsy*. 1. vydání, Praha: Mladá fronta, 2014, 232 s. ISBN 978-80-204-3299-5.
- [19] *NAFLD and NASH research update* [online]. Poslední revize 02.2018 [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: <https://www.mayoclinic.org/medical-professionals/digestive-diseases/news/nafl-d-and-nash-research-update/mac-20430522>
- [20] DVOŘÁK K. Neinvazivní diagnostika jaterních chorob – zobrazovací metody. *Vnitřní lékařství*. 2019, **65**(9):539-545.
- [21] DVOŘÁK K. Možnosti neinvazivní diagnostiky u NAFLD. *Gastroenterologie a Hepatologie*. 2015, **69**(2):110–115.
- [22] NOVÁKOVÁ B. a BRŮHA R. Sérové markery v diagnostice nealkoholické steatohepatitidy. *Vnitřní lékařství*. 2019, **65**(9):577-582.

- [23] *Necílené a cílené biopsie jater* [online]. [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <<https://www.ikem.cz/cs/transplantcentrum/klinika-hepatogastroenterologie/onas/jaka-vysetreni-poskytujeme/necilene-a-cilene-biopsie-jater/a-1585/>>
- [24] *Sonografie a elastografie* [online]. [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <<https://www.gastrohepacentrum.cz/sluzby/sonografie-a-elastografie/>>
- [25] PALEČEK T. *MRI srdce* [online]. Poslední revize 04.2015 [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <<https://www.kardio-cz.cz/data/clanek/420/dokumenty/763-mrisrdcepalecekproatestanty.pdf>>
- [26] HAINER V. *Základy klinické obezitologie*. 3. vydání. Praha: Grada, 2022, 566 s. ISBN 978-80-271-4715-1.
- [27] *Gama-glutamyltransferáza v séru* [online]. Poslední revize 06.2021 [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <[https://www.nempt.cz/files/lab\\_prirucka/\\_LP\\_01960.htm](https://www.nempt.cz/files/lab_prirucka/_LP_01960.htm)>
- [28] FELDSTEIN A. E., WIECKOWSKA A., LOPEZ A. R., LIU Y. C., ZEIN N. N. a MCCULLOUGH A. J. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study. *Hepatology*. 2009, **50**(4):1072-8.
- [29] SÝKOROVÁ M. *Aktivace kaspáz během vývojových procesů*. Bakalářská práce. 2018. Oddělení genetiky a molekulární biologie, Přírodovědecká fakulta Masarykovy Univerzity, Brno.
- [30] ALHINAI A., QAYYUM-KHAN A., ZHANG X., SAMAHA P., METRAKOS P., DESCHENES M., WONG P., GHALI P., CHEN T. Y. a SEBASTIANI G. Non-alcoholic steatohepatitis in liver transplant recipients diagnosed by serum cytokeratin 18 and transient elastography: A prospective study. *World Journal of Hepatology*. 2021, **13**(12):2179-2191.
- [31] LEE J., VALI Y., BOURSIER J., DUFFIN K., VERHEIJ J., BROSNAN M. J., ZWINDERMAN K., ANSTEE Q. M., BOSSUYT P. M. a ZAFARMAND M. H. Accuracy of cytokeratin 18 (M30 and M65) in detecting non-alcoholic steatohepatitis and fibrosis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2020, **15**(9):e0238717.



- [32] HENRY B. M., CHERUIYOT I., BENOIT S. W., SANCHIS-GOMAR F., LIPPI G. a BENOIT J. Cytokeratin 18 cell death assays as biomarkers for quantification of apoptosis and necrosis in COVID-19: a prospective, observational study. *Journal of Clinical Pathology*. 2021, jclinpath-2020-207242.
- [33] 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):807-820.
- [34] MARQUES V., AFONSO M. B., BIERIG N., DUARTE-RAMOS F., SANTOS-LASO Á., JIMENEZ-AGÜERO R., EIZAGUIRRE E., BUJANDA L., PAREJA M. J., LUÍS R., COSTA A., MACHADO M. V., ALONSO C., ARRETXE E., ALUSTIZA J. M., KRAWCZYK M., LAMMERT F., TINIAKOS D. G., FLEHMIG B., CORTEZ-PINTO H., BANALES J. M., CASTRO R. E., NORMANN A., RODRIGUES C. M. P. Adiponectin, Leptin, and IGF-1 Are Useful Diagnostic and Stratification Biomarkers of NAFLD. *Frontiers in Medicine*. 2021, **8**:683250.
- [35] JIMÉNEZ-CORTEGANA C., GARCÍA-GALEY A., TAMI M., DEL PINO P., CARMONA I., LÓPEZ S., ALBA G. a SÁNCHEZ-MARGALET V. Role of Leptin in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Biomedicines*. 2021;**9**(7):762.
- [36] HAN D., CHEN J., LIU S., ZHANG Z., ZHAO Z., JIN W. a XIN Y. Serum Resistin Levels in Adult Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Clinical and Transationall Hepatoogyl*. 2021, **9**(4):484-493.
- [37] LEE D. H. Noninvasive Evaluation of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Endocrinology and Metabolism*. 2020, **35**(2):243-259.

- [38] AIGLOVÁ K. Sérové markery jako neinvazivní alternativa vyšetření jaterní fibrózy. *FONS*. 2012, **22**(3):21-24.
- [39] VALI Y., LEE J., BOURSIER J., SPIJKER R., VERHEIJ J., BROSNAN M. J., ANSTEE Q. M., BOSSUYT P. M., ZAFARMAND M. H. FibroTest for Evaluating Fibrosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Medicine*. 2021, **10**(11):2415.
- [40] *FibroTest-ActiTest, Serum* [online]. [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: <<https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/Overview/38292#Clinical-and-Interpretive>>
- [41] POYNARD T., RATZIU V., NAVEAU S., THABUT D., CHARLOTTE F., MESSOUS D., CAPRON D., ABELLA A., MASSARD J., NGO Y., MUNTEANU M., MERCADIER A., MANNS M., ALBRECHT J. The diagnostic value of biomarkers (SteatoTest) for the prediction of liver steatosis. *Comparative Hepatology*. 2005, **4**:10.
- [42] BEDOGNI G., BELLENTANI S., MIGLIOLI L., MASUTTI F., PASSALACQUA M., CASTIGLIONE A., TIRIBELLI C. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterology*. 2006, **6**:33.
- [43] KLEINER D. E., BRUNT E. M., VAN NATTA M., BEHLING C., CONTOS M. J., CUMMINGS O. W., FERRELL L. D., LIU Y. C., TORBENSON M. S., UNALP-ARIDA A., YEH M., MCCULLOUGH A. J., SANYAL A. J. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005, **41**(6):1313-21.
- [44] LACKNER C. *Nonalcoholic fatty liver disease*. In: SAXENA R. (ed.) *Practical Hepatic Pathology: a Diagnostic Approach*. 2. vydání. Philadelphia: Elsevier, 2018, 167-187. ISBN 978-0-323-42873-6.
- [45] *Bariatrická chirurgie* [online]. [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: <<https://www.obklinika.cz/bariatricka-chirurgie>>

## **10 PŘÍLOHY**

### **10.1. SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ**

Obrázek 1: Histologická stavba jaterní tkáně [1].....	7
Obrázek 2: Vývoj jaterního onemocnění při NAFLD [7].....	13
Obrázek 3: Mapa prevalence NAFLD [35] .....	14
Obrázek 4: Vznik reaktivních forem kyseliny [15] .....	17
Obrázek 5: Patogeneze vzniku NAFLD [16].....	17
Obrázek 6: Histologické změny v jaterní tkáni v průběhu NAFLD [19] .....	20
Obrázek 7: Stanovení cytokeratinu 18 (CK18) a jeho fragmentů pomocí antigenů M30 a M65 [32] .....	26

### **10.2. SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1: Porovnání výhod a nevýhod jaterní biopsie a sérových markerů [13] .....	25
Tabulka 2: Stádia fibrózy podle FibroTestu [40].....	29