

Marcin Banaszczak

Ewa Stachowska✉

Zakład Biochemii i Żywienia Człowieka PUM,
Szczecin

✉ Zakład Biochemii i Żywienia Człowieka,
Pomorski Uniwersytet Medyczny, ul.
Broniewskiego 24, 71-460 Szczecin; tel.: (91) 441
4806, e-mail: ewast@pum.edu.pl

Artykuł otrzymano 24 sierpnia 2017 r.

Artykuł zaakceptowano 25 sierpnia 2017 r.

Słowa kluczowe: Niealkoholowe stłuszczenie
wątroby, patomechanizm

Wykaz skrótów: ALD – alkoholowe stłuszczenie
wątroby, ALT – aminotransferaza alanino-
wa, AST – aminotransferaza asparaginianowa,
HDL – lipoproteiny o wysokiej gęstości, NA-
FLD – niealkoholowe stłuszczenie wątroby,
NASH – niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie
wątroby

STRZESZCZENIE

Niealkoholowe stłuszczenie wątroby (NAFLD) należy do najczęściej występujących chorób wątroby na świecie. W obecnych czasach spotyka się coraz więcej osób z czynnikami zespołu metabolicznego, cukrzycą typu II i nadciśnieniem, którego wątrobową manifestacją jest NAFLD. Większość osób cierpiących na NAFLD jest otyła, lecz choroba może dotknąć także osoby szczupłe. Choroba ta w skrajnych przypadkach może prowadzić do zwłóknienia wątroby i jej marskości. Choć NAFLD przez większość czasu pozostaje chorobą bezobjawową, to może ulec progresji do ciężkiej formy nazywanej niealkoholowym stłuszczeniowym zapaleniem wątroby (NASH), a nawet do raka wątrobowokomórkowego. W niniejszej pracy przeglądowej omówiono czynniki, które mają wpływ na patogenezę NAFLD, do których należą m.in. insulinooporność, czynniki epigenetyczne, zaburzenie funkcjonowania adipocytokin, zaburzenie flory jelitowej, stres oksydacyjny oraz markery stanów zapalnych – pochodne kwasów tłuszczowych.

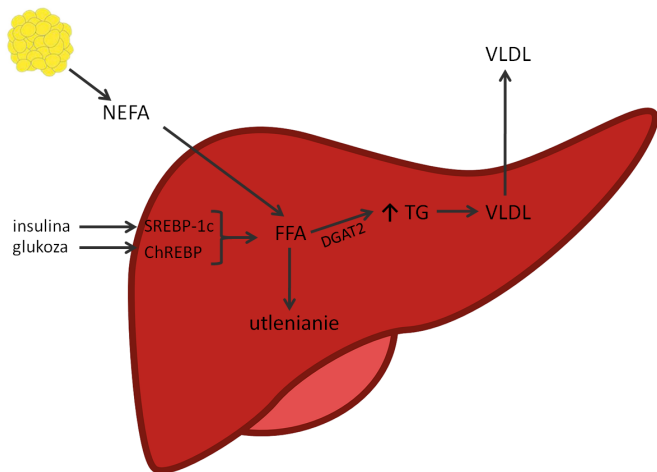
WPROWADZENIE

Niealkoholowe stłuszczenie wątroby jest najbardziej powszechną chorobą wątroby nie tylko w krajach rozwiniętych [1,2], ale także na całym świecie [3,4]. NAFLD zostało po raz pierwszy opisane ponad 60 lat temu, jednak wówczas choroba ta nie była tak powszechnie spotykana, jak dziś [5]. Manifestacja tej choroby obejmuje szerokie spektrum objawów – od prostego stłuszczenia do niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby [4], zwłóknienia i marskości wątroby [2]. Niealkoholowe stłuszczenie wątroby jest obecnie uważane za wątrobową manifestację zespołu metabolicznego [6,7] oraz jest czynnikiem ryzyka nadciśnienia tętniczego oraz cukrzycy typu II [8]. Diagnoza zespołu metabolicznego u pacjenta wymaga stwierdzenia występowania co najmniej trzech z pięciu następujących objawów: otyłości brzusznej, nieprawidłowej glikemii na czczo, zwiększonego stężenia triacylogliceroli, niskiego stężenia lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL) i podwyższonego ciśnienia krwi [9,10].

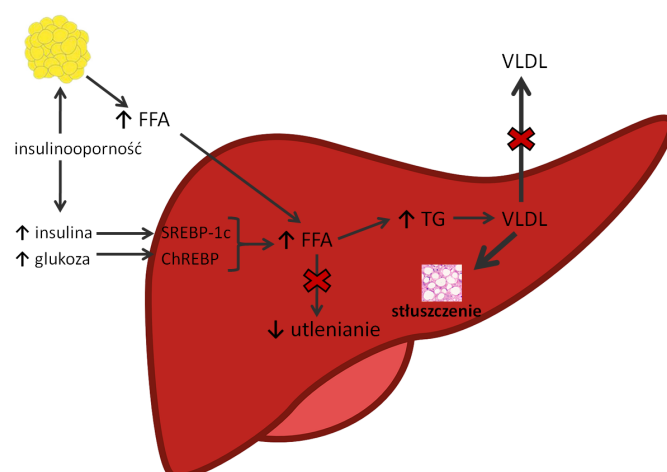
NAFLD objawia się stopniem stłuszczenia wątroby, które obejmuje więcej niż 5-10% wagi wątroby. Stłuszczenie to jest spowodowane akumulacją tłuszczów w postaci triacylogliceroli zbudowanych z glicerolu połączonego z trzema resztami kwasów tłuszczowych [6]. Choroba występuje u osób, które cierpią na hiperlipidemię, nadciśnienie tętnicze, hiperglikemię, a także cukrzycę [11]. Obraz histologiczny wątroby pacjenta z NAFLD jest identyczny do tych u osób z alkoholowym stłuszczeniem wątroby (ALD). Diagnozę NAFLD u pacjentów opiera się na podstawie nieuzasadnionego zwiększonego stężenia enzymów wątrobowych – aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginianowej (AST) – lub za pomocą ultrasonografii (USG), tomografii komputerowej (CT) oraz rezonansu magnetycznego (MRI) [12], jednocześnie wykluczając inne przyczyny stłuszczenia wątroby [13]. Diagnoza pacjentów z NAFLD zaleca niespożywanie przez nich alkoholu (a przynajmniej nie więcej niż 20 gramów etanolu na dobę) [13]. Stężenia enzymów wątrobowych są wprost proporcjonalne do stopnia stłuszczenia i stanu zapalnego wątroby u dorosłych i u dzieci, lecz proporcja ta nie jest zachowana jeśli jednocześnie występuje zwłóknienie wątroby [14]. Niestety czułość i specyficzność badania stężenia ALT i AST w celu identyfikacji NAFLD nie jest zadowalająca w porównaniu z CT, MRI oraz analizą biopsji wątroby [15]. Obecnie złotym standardem badania stopnia zaawansowania niealkoholowego stłuszczenia wątroby jest biopsja wątroby [16], lecz stara się jej unikać ze względu na inwazyjność tej metody [17].

CZYNNIKI RYZYKA NAFLD

Częstość występowania niealkoholowego stłuszczenia wątroby stale wzrasta. W Stanach Zjednoczonych 20-30% dorosłych choruje na NAFLD, a wśród europejskiej populacji dorosłych odsetek ten stanowi 14-21% [18]. Ponadto 30-



Rycina 1. Schemat syntezy triacylogliceroli i VLDL. Objasnienia skrótów: ↑ - wzrost stężenia, ↓ - spadek stężenia, NEFA - nieestryfikowane kwasy tłuszczowe, DGAT2 - acylotransferaza diacyloglicerolowa, TG - triacyloglicerole, VLDL - lipoproteiny o bardzo niskiej gęstości, SREBP-1C - białko wiążące sekwencję odpowiedzi na sterole, ChREBP - białko wiążące sekwencję odpowiedzi na węglowodany (opracowano na podstawie [5]).



Rycina 2. Wpływ insulinooporności i NAFLD na metabolizm triacylogliceroli w wątrobie. Objasnienia skrótów: ↑ - wzrost stężenia, ↓ - spadek stężenia, FFA - wolne kwasy tłuszczowe, TG - triacyloglicerole, VLDL - lipoproteiny o bardzo niskiej gęstości, SREBP-1C - białko wiążące sekwencję odpowiedzi na sterole, ChREBP - białko wiążące sekwencję odpowiedzi na węglowodany (opracowano na podstawie [5]).

50% cukrzyków oraz 93% osób z hiperlipidemią cierpi na NAFLD [18]. Częstość występowania NAFLD wzrasta wraz z wiekiem (najwięcej przypadków w przedziale 40-65 lat), oraz jest zależna od płci - mężczyźni częściej chorują na tę chorobę [17]. Badania osób otyłych (BMI >30) w Polsce wykazały, że NAFLD występuje aż u 78% badanych [18]. NAFLD ma również istotny wpływ na czynniki ryzyka choroby sercowo-naczyniowej [19].

PATOMECHANIZM NAFLD

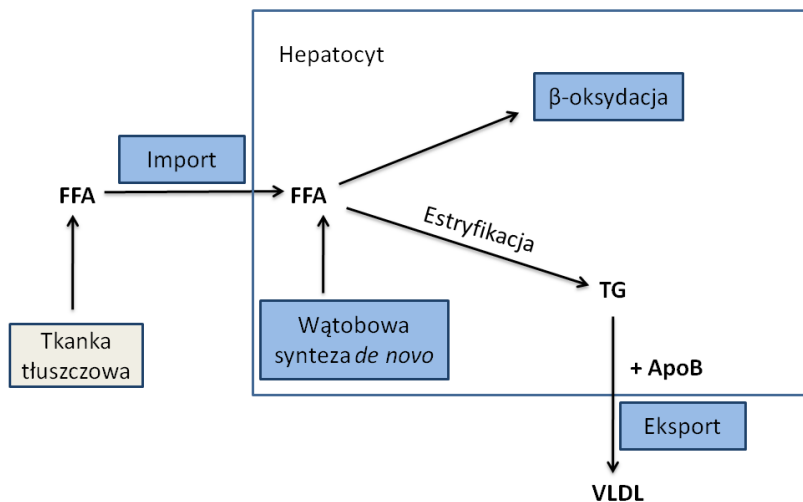
Wątroba jest centralnym organem, który odpowiada za wiele funkcji życiowych, takich jak wytwarzanie żółci, termoregulacja i metabolizm glukozy oraz lipidów. Dostarczenie do organizmu nadwyżki energii, szczególnie w postaci tłuszczów, negatywnie wpływa na wątrobę [20]. Organ ten nie jest w pełni przystosowany do funkcji gromadzenia tłuszczów, dlatego ilość triacylogliceroli (TG) w hepatocytach jest niewielka, a ich obieg jest stały [8]. Kwasy tłuszczowe pochodzące z diety są wchłaniane przez jelito cienkie, gdzie zostają połączone cząsteczką glicerolu do triacyloglicerolu, a następnie wbudowane w chylomikrony [8]. Te kwasy tłuszczowe mogą zostać przekształcone w sterole, glicerolipidy, glicerofosfolipidy, które mogą zostać upakowane w lipoproteiny o bardzo niskiej gęstości (VLDL). W tej postaci fosfolipidy są transportowane do osocza [8] (Ryc. 1). Jeżeli kwasy tłuszczowe nie zostaną utlenione i zużyte jako źródło energii, to wówczas są gromadzone w hepatocytach w postaci triacylogliceroli [5]. Zjawisko to prowadzi do rozwoju stłuszczenia wątroby, które może być dodatkowo indukowane przez insulinooporność, zaburzenia transportu lipidów [5,20] lub nadwyżkę węglowodanów pochodzących z diety [8] (Ryc. 2). Nadmierne gromadzenie triacylogliceroli w przestrzeni komórkowej hepatocytów doprowadza do stłuszczenia wątroby, a stłuszczenie wątroby jest przyczyną stanów zapalnych, które mogą doprowadzić do NASH, marskości wątroby, a nawet raka wątrobowokomórkowego [20].

Niealkoholowe stłuszczenie wątroby staje się bardzo poważnym zagrożeniem zdrowotnym ze względu na częstsze występowanie otyłości zarówno u dorosłych jak i u dzieci [21]. Podłoże tej choroby nie do końca zostało poznane [22], lecz istnieją hipotezy, które wyjaśniają prawdopodobny mechanizm powstawania NAFLD. Koncepcja aktualnej patogenezy NAFLD jest wciąż rozwijana wraz z gromadzeniem informacji pochodzących z badań na ludziach i zwierzętach [23].

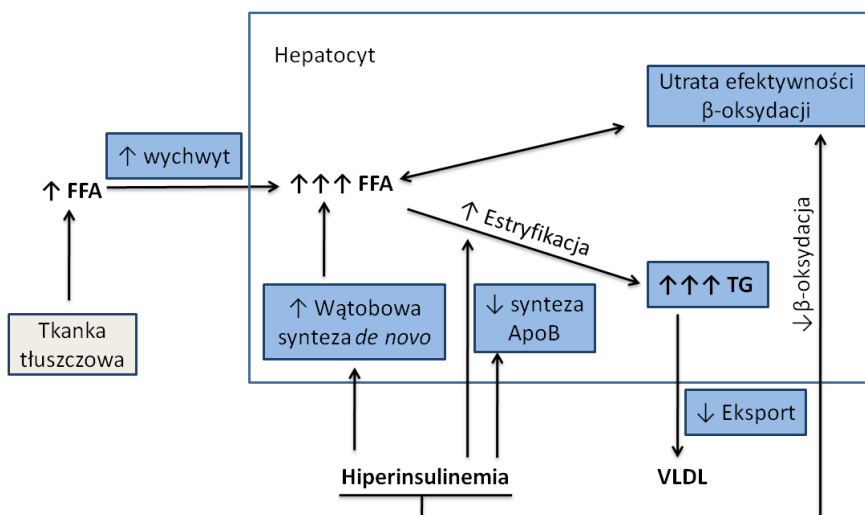
HIPOTEZA „TWO-HIT”

Model hipotezy „Two-hit” został zaproponowany 17 lat temu [24]. Pierwsze „uderzenie” objawia się akumulacją triacylogliceroli oraz kwasów tłuszczowych, co jest konsekwencją insulinooporności, diety o zwiększonej kaloryczności oraz nasilonej wątrobowej lipogenezy, która obejmuje co najmniej 5% całkowitej masy wątroby [13,24]. Ilość tłuszczu wątrobowego jest składową wielu procesów: importu wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) z tkanki tłuszczowej, β-oksydacji FFA, syntezy *de novo* FFA, estryfikacji FFA do triacylogliceroli i ich eksportu jako VLDL. W tym przypadku lipogeneza jest konsekwencją zaburzenia równowagi pomiędzy przyływem i syntezą tłuszczów w wątrobie, a beta-oksydacją i eksportem tłuszczów [25] (Ryc. 3).

Drugie „uderzenie” obejmuje peroksydację lipidów, zaburzenia mitochondrialne oraz stan zapalny doprowadzający do uszkodzenia hepatocytów i rozwoju zwłóknienia wątroby [24]. Najczęściej spotykaną teorią tłumaczącą etiologię drugiego ‘uderzenia’ jest insulinooporność, która ma istotny wpływ na metabolizm lipidów. Hiperinsulinemii towarzyszy akumulacja tłuszczów dzięki współdziałaniu wielu mechanizmów. Insulinooporność zwiększa lipolizę triacylogliceroli w tkance tłuszczowej oraz hamuje estryfikację wolnych kwasów tłuszczowych, które następnie są (w nadmiarze) wychwytywane przez wątrobę. Ponadto zwiększa się synteza *de novo* wolnych kwasów tłuszczowych i spowalnia się β-oksydacja wol-



Rycina 3. Metabolizm lipidów w hepatocytach. Objaśnienia skrótów: ApoB – apolipoproteina B, FFA – wolne kwasy tłuszczowe, TG – triacyloglicerole, VLDL – lipoproteiny o bardzo niskiej gęstości (opracowano na podstawie [25]).



Rycina 4. Efekt insulinooporności na metabolizm lipidów. Objaśnienia skrótów: ApoB – apolipoproteina B, FFA – wolne kwasy tłuszczowe, TG – triacyloglicerole, VLDL – lipoproteiny o bardzo niskiej gęstości (opracowano na podstawie [25]).

nych kwasów tłuszczowych w wątrobie [25]. Wynikiem tego jest nadmierne gromadzenie tłuszczów w tym narządzie oraz zwiększona synteza FFA, która jest dodatkowo napędzana przez czynniki lipogeniczne takie jak receptory aktywowane przez proliferatory peroksydomów gamma (PPAR- γ) oraz czynnik transkrypcyjny SREBP-1 (ang. *Sterol Regulatory Element-Binding Protein 1*) [25]. Przypuszcza się także, że zmniejszona produkcja VLDL oraz eksport triacylogliceroli mogą być powiązane ze zmniejszoną syntezą apolipoproteiny B (ApoB) [25] (Ryc. 4). Ekspresja wątrobowego mRNA apoB jest stymulowana przez FoxO1 (ang. *Forkhead transcription factor 1*) [26].

Model „Two-hit” został zakwestionowany, ponieważ zwiększenie stosunku nasyconych kwasów tłuszczowych do kwasów nienasyconych (dostarczanych lub gromadzonych w wątrobie) może częściowo pośredniczyć w progresji od prostego stłuszczenia do NASH. Ostatnie

dane pokazały, że kiedy prekursorzy triacylogliceroli gromadzą się w wątrobie oraz gdy mechanizmy detoksykacji wątroby są nieaktywne (lub przeciążone) to wówczas nasycone kwasy tłuszczowe bezpośrednio mogą wywołać zapalenie wątroby i insulinooporność. Te czynniki zaś mogą doprowadzić do progresji stłuszczenia w kierunku bardziej zaawansowanych stadiów choroby [27].

HIPOTEZA „MULTI-HIT”

Hipoteza „Multi-hit” w odróżnieniu do hipotezy „two-hit” nie kończy się na dwóch uderzeniach tylko opisuje procesy, które mogą zachodzić w wątrobie jednocześnie powodując jej stłuszczenie. Jednym z przykładów jest zwiększona lipogeneza [28,29] oraz insulinooporność [30]. Ponadto czynnikami wywołującymi NAFLD są czynniki genetyczne, epigenetyczne, środowiskowe czy też otyłość [31,32]. Procesy te uwrażliwiają wątrobę na serię kolejnych ‘uderzeń’, które prowadzą do uszkodzenia hepatocytów zaczynając od prostego stłuszczenia i NASH, które może być zainicjowane przez czynniki takie jak: stres oksydacyjny, zaburzenia wydzielania adipocytokin, cytokiny prozapalne lub dysfunkcja mitochondriów [31]. Progresja choroby może doprowadzić nawet do zwłóknienia wątroby [30], marskości i rozwoju raka wątrobowokomórkowego [32].

PODŁOŻE GENETYCZNE NAFLD

PNPLA3

Badania genomu człowieka pozwoliły na odkrycie wielu genów, które są odpowiedzialne za liczne choroby oraz metody leczenia. Analiza genomów w poszczególnych rasach u 9229 osób pod kątem NAFLD potwierdziły znaczenie genu *PNPLA3* (ang. *Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3*) w patomechanizmie tej choroby [33]. Szczególne polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNP) w tym genie warunkują występowanie łagodnych stanów zapalnych i zwłóknienia wątroby, które doprowadzają do NASH [32]. Dokładna funkcja genu *PNPLA3* nie została poznana, gdyż badania myszy *PNPLA3* $-/-$ nie wykazały stłuszczenia ani uszkodzenia wątroby [34]. Wydaje się jednak, że zwiększona ekspresja SREBP-1c wiąże się z miejscem transkrypcji genu *PNPLA3*, tym samym zmniejszając zawartość triacylogliceroli w hepatocytach [32].

TM6SF2

Kozlitina i współpracownicy przeprowadzili badania genomowe wśród 3 niezależnych populacji (n = 80000), u

których zauważono udział nie tylko genu *PNPLA3* na rozwój NAFLD, ale także genu *TM6SF2* (ang. *Transmembrane 6 superfamily member 2*); funkcja *TM6SF2* dotychczas nie została poznana [35]. Substytucja aminokwasowa Glu167Lys w białkowym produkcie tego genu była powiązana z wyższym stężeniem krążącej transaminazy alaninowej (ALAT), markerem uszkodzenia wątroby, oraz ze zmniejszonym stężeniem lipoproteiny o bardzo niskiej gęstości (LDL), triacylogliceroli i fosfatazy alkalicznej. Substytucja wywoływała również o 50% mniejszą aktywność tego białka niż wariant dziki [35]. Postanowiono zatem sprawdzić funkcję białka kodowanego przez gen *TM6SF2* przez wyhodowanie myszy *TM6SF2*^{-/-}, u których stwierdzono 50% mniejsze wydzielanie cholesterolu we frakcji VLDL oraz trzykrotnie większe stężenie triacylogliceroli w wątrobie. Biorąc te fakty pod uwagę, prawidłowe funkcjonowanie genu *TM6SF2* jest wymagane do optymalnego wytwarzania VLDL, a jego funkcjonalne polimorfizmy mogą doprowadzić do rozwoju NAFLD [35].

Geny opisane powyżej pełnią istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu wątroby i na dzień dzisiejszy są najlepiej opisane pod kątem patofizjologii NAFLD.

WPLYW OTYŁOŚCI NA NAFLD

Otyłość stanowi poważne zagrożenie wśród dzieci i dorosłych, jest przyczyną chorób cywilizacyjnych takich jak nadciśnienie, cukrzyca, hiperlipidemia czy NAFLD. Akumulacja tłuszczu w otyłości brzusznej koreluje z chorobami ze strony układu krążenia, nowotworami oraz NASH [32].

Badania wykonane przez japońskich naukowców [37] wykazały dodatnią korelację między nasileniem stłuszczenia wątroby a akumulacją tłuszczu trzewnego i insulinoopornością, zarówno u osób otyłych i nieotyłych. Sugeruje to, że stłuszczenie wątroby zależy od nagromadzenia tłuszczu trzewnego bez względu na stopień otyłości [37].

INSULINOOPORNOŚĆ

Insulinooporność jest niezależnym markerem NAFLD. Marker ten wzrasta wraz ze stopniem zaawansowania NAFLD niezależnie od występowania hiperlipidemii, cukrzycy czy też otyłości. Doustny test tolerancji glukozy wykazał nieprawidłowe funkcjonowanie komórek β trzustki u pacjentów z NASH, natomiast nie obserwowano tego zjawiska u pacjentów z prostym stłuszczeniem [38].

CZYNNIKI EPIGENETYCZNE

ACETYLACJA I DEACETYLACJA HISTONÓW

Modyfikacje N-końca histonów pełnią istotną rolę w formowaniu struktury chromatyny oraz ekspresji genów [39]. Najczęściej spotykanymi modyfikacjami genów jest acetylacja oraz deacetylacja. Acetylacja aktywuje transkrypcję genów, która jest katalizowana przez acetylotransferazę histonów (HAT) podczas gdy deacetylacja katalizowana przez deacetylazę histonów (HDAC), której funkcją jest represja genów. Najważniejsze odkrycia dotyczące mechanizmów epigenetycznych w NAFLD zaobserwowano podczas badań na myszach. Zaburzenie równowagi pomiędzy HDAC,

Tabela 1. Aktywność cząsteczek miRNA w NAFLD (opracowano na podstawie [39])

miR	Typ regulacji	Model eksperymentalny
miR-15b	Upregulation	<i>In vitro</i> /szczury/ludzie
miR-34a	Upregulation	Ludzie
miR-221	Upregulation	<i>In vitro</i>
miR-222	Upregulation	<i>In vitro</i>
miR-155	Downregulation	Myszy
miR-198	Downregulation	Ludzie
miR-451	Downregulation	Ludzie
mir-146b	Upregulation	Ludzie

a HAT ma wpływ zmianę ekspresji genów powiązanych z NAFLD co może wywołać uszkodzenia wątroby [39].

MICRORNA (miRNA)

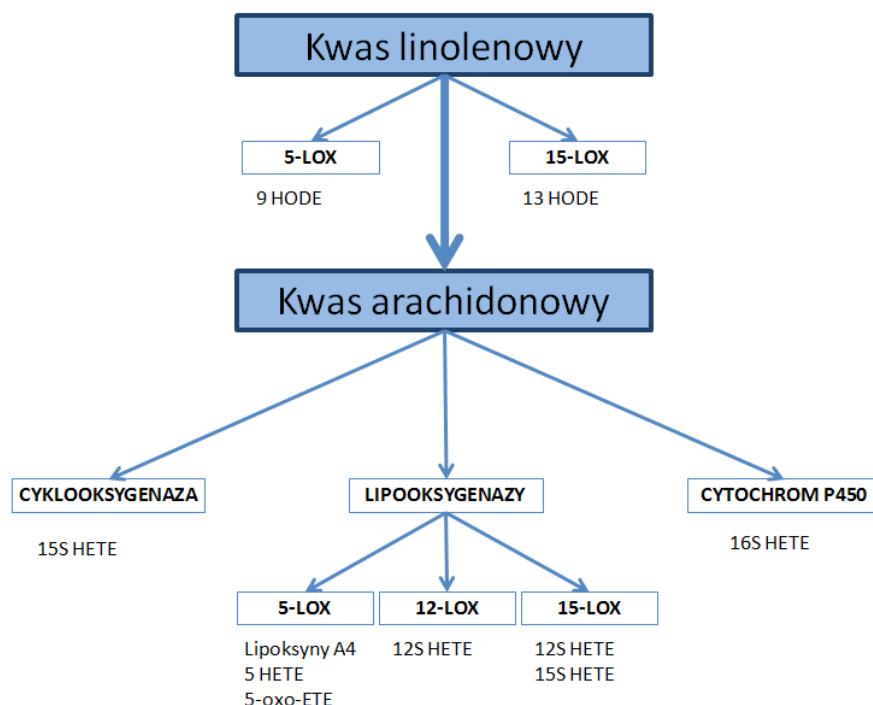
MicroRNA jest obecnie najbardziej intensywnie badanym mechanizmem epigenetycznym w NAFLD [39]. MiRNA należy do klasy krótkich, jednoniciowych, silnie konserwatywnych niekodujących RNA, które mają wpływ na regulację ekspresji genów i translacji białek. Od miRNA zależne są wszystkie procesy zachodzące w komórce takie jak podział komórkowy, proliferacja, metabolizm czy też apoptoza [39]. Pojedyncze miRNA może mieć wpływ na wiele genów i zarówno wiele miRNA może mieć wpływ na jeden gen [39]. Krążące miRNA w płynach ustrojowych, chronione przed degradacją przez RNAzy stały się celem badań nad nieinwazyjną diagnostyką schorzeń, w tym także NAFLD [39]. Okazało się, że najwyższą ekspresję cząsteczki miRNA – miR-122 obserwuje się w wątrobie przy czym jej ekspresja jest istotnie niższa u pacjentów z NASH [40]. Odnotowano także zależność innych cząsteczek miRNA w NAFLD (Tab. 1).

METYLACJA

Metylacja DNA jest kolejnym mechanizmem epigenetycznym, który zachodzi podczas deregulacji metabolizmu jednego węgla w szlaku kwasu foliowego [41]. Metylacja DNA polega na dodaniu grupy metylowej do cytozyny w obrębie wysp CpG [39]. Badania potwierdziły zależność metylacji wysp CpG od stopnia zaawansowania NAFLD. Pacjenci z zaawansowanym NAFLD mieli hipo- oraz hiper-metylację wysp CpG w stopniu istotnie wyższym od grupy pacjentów z łagodnym NAFLD [42].

ADIPOCYTOKINY

Adipocytokiny są wielofunkcyjnymi czynnikami, które pochodzą z tkanki tłuszczowej. Adiponektyna należy do najliczniejszej grupy adipokin pochodzących z tkanki tłuszczowej. Stężenie adiponektyny jest odwrotnie proporcjonalne do stopnia otyłości brzusznej oraz insulinooporności [31,43,44]. Prozapalne adipocytokiny takie jak czynnik martwicy nowotworu alfa (TNF- α) oraz interleukina 6 (IL-6) hamują działanie adiponektyny. Niski poziom adiponektyny w NAFLD może być postrzegany jako ograniczenie zdolności podtrzymywania utleniania lipidów



Rycina 5. Schemat przemian wybranych pochodnych kwasów tłuszczowych (opracowano na podstawie [48-50,52-53]).

w odpowiedzi na obciążenie wątroby wolnymi kwasami tłuszczowymi, co wywołuje przestawienie metabolizmu FFA w kierunku reestryfikacji [45]. Metaanaliza wyników 27 badań określiła zależność polegającą na tym, że u pacjentów z NAFLD stężenie adiponektyny było niskie, natomiast u pacjentów z NASH – bardzo niskie [29].

BAKTERYJNA FLORA JELITOWA

Endotoksyny oraz lipopolisacharydy produkowane przez florę bakteryjną jelit mogą zostać przetransportowane do wątroby przez żyłę wrotną. Pacjenci, którzy przeszli biopsję wątroby celem potwierdzenia diagnozy NAFLD mają zwiększoną przepuszczalność jelit wraz z zaburzeniem ścisłych połączeń międzykomórkowych [45] w jelitach co promuje rozrost bakterii w jelicie cienkim [39]. Badania na myszach wykazały istotny wpływ rozrostu kolonii

bakteryjnej w jelitach na ekspresję białek łączących komórki jelitowe. Stężenie endotoksyn jest istotnie wyższe u pacjentów z NAFLD [39].

STRES OKSYDACYJNY

Stres oksydacyjny jest powiązany z mechanizmem starzenia, kancerogenezy oraz progresją miażdżycy. Nadmierny stres oksydacyjny wywołany przez mitochondrialne, peroksysomalne i mikrosomalne reaktywne formy tlenu w NASH wywołują apoptozę oraz uszkodzenie zarówno jądrowego jak i mitochondrialnego DNA [39]. Zaburzenie równowagi pomiędzy odpowiedziami oksydacyjnymi i antyoksydacyjnymi mogą doprowadzić do nadmiernego wytworzenia reaktywnych form tlenu, ponadtlenku, nadtlenu wodoru oraz rodników hydroksylowych. Ostry stres oksydacyjny może być wywołany przez czynniki takie jak stan zapalny czy też uszkodzenie narządu. W warunkach stresu oksydacyjnego procesy takie jak β -oksydacja mają na celu przekształcenie utlenionych kofaktorów NAD⁺ i FAD do zredukowanych NADH i FADH₂. Kolejne utlenienie tych kofaktorów powoduje dostarczenie elektronów do ostatecznego akceptora tlenu cząsteczkowego w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym [39].

W warunkach fizjologicznych najbardziej reaktywne cząsteczki – niekompletnie zredukowane formy tlenu są przekształcane do cząsteczek wody. Zdolności mitochondrialne do kontrolowania balansu oksydacyjnego ulegają pogorszeniu po długotrwałym narażeniu na stres oksydacyjny [39].

WPŁYW POCHODNYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH (HETE/HODE)

Pochodne kwasów tłuszczowych należą do mediatorów stanów zapalnych zarówno w alkoholowej chorobie wątroby jak i w NAFLD [46]. Akumulacja lipidów w stłuszczonej wątrobie przyczynia się do ich peroksydacji w związku z

Tabela 2. Funkcje fizjologiczne wybranych pochodnych kwasów tłuszczowych

Produkt	Funkcja w organizmie	Model badawczy	Źródło
Lipoksyny A4	Zmniejszenie stężenia TNF- α oraz IL-6 w osoczu, łagodzenie apoptozy komórek wątrobowych	Myszy	[56]
16RS HETE	Hamowanie adhezji i agregacji neutrofilów w jelitach	Myszy	[57]
13S HODE	Utlenianie LDL, Wzrost wydzielania cholesterolu z makrofagów	Myszy Linia komórkowa	[58] [59]
9S HODE	Utlenianie LDL	Myszy	[58]
5 HETE	Uwrażliwienie hepatocytów na apoptozę indukowaną przez TNF- α	Myszy	[60]
12S HETE	Stymulacja ekspresji oksydazy NADPH na wyspach trzustkowych Indukcja stanu zapalnego przez stymulację kinazy białkowej C	Linia komórkowa Szczury	[61] [62]
15S HETE	Marker stanu zapalnego	Szczury	[62]
5-oxo ETE	Silny aktywator eozynofili, chemoatraktant	Ludzie	[63]

czym powstają pochodne kwasów tłuszczowych [46]. Do pochodnych kwasów tłuszczowych należą eikozanoidy – kwasy hydroksyeikozatetraenowe (HETE) oraz kwasy hydroksyoktadekadienowe (HODE).

Kwasy HODE (9 HODE i 13 HODE) są przekształcane w wyniku konwersji z kwasu linolowego za pośrednictwem lipoksygenaz (LOX) – lipoksygenazy 5 (5-LOX) oraz lipoksygenazy 15 (15-LOX). Natomiast kwasy HETE (5 HETE, 12 HETE oraz 15S HETE) są przekształcane w wyniku katabolizmu kwasu arachidonowego (AA) przez 5-LOX, 12-LOX oraz 15-LOX [46,47,48]. Pochodna 15S HETE może także być przekształcana z AA na drodze szlaku indukowanego przez cyklooksygenazę 1 (COX-1) i cyklooksygenazę 2 (COX-2) [47]. Zarówno lipoksyny A4 jak i pochodna 5-oxo ETE są wytwarzane z AA w wyniku działania 5-LOX [49,50]. Pochodna 16 HETE jest wytwarzana z kwasu arachidonowego za pośrednictwem cytochromu P450 [51]. Przemiany pochodnych kwasów tłuszczowych zostały przedstawione na rycinie 5.

Wzrost koncentracji pochodnych kwasów tłuszczowych takich jak 5 HETE, 8 HETE oraz 15 HETE charakteryzuje proces progresji stłuszczenia wątroby oraz NASH. Stres oksydacyjny ma istotny wpływ na progresję niealkoholowego stłuszczenia wątroby [46]. Pochodne 9 HODE oraz 13 HODE są markerami stresu oksydacyjnego, a wzrost ich koncentracji jest istotnie wyższy u pacjentów z niealkoholowym stłuszczeniowym zapaleniem wątroby w porównaniu z pacjentami ze stłuszczeniem wątroby.

Oksydacja produktu kwasu arachidonowego – 5 HETE doprowadza do wytworzenia aktywnie biologicznej pochodnej – 5-oxo ETE [55]. Kwas 5-oxo ETE jest silnym chemoatraktantem. Funkcje biologiczne 5-oxo ETE są kontrolowane przez selektywne receptory OXE, których ekspresja zachodzi na komórkach stanu zapalnego takich jak eozynofile czy neutrofile. Synteza 5-oxo ETE jest regulowana przez wewnątrzkomórkowe NADP⁺, którego ilość silnie wzrasta podczas stresu oksydacyjnego [47].

Cytochrom P450 (CYP450) należy do bardzo zróżnicowanej klasy enzymów zaangażowanych w utlenianie związków organicznych. Podgrupa CYP metabolizuje kwasy arachidonowy i kwas linolowy w szereg biologicznie czynnych mediatorów stanów zapalnych [55]. Lipoksygenazy należą do enzymów, które ulegają ekspresji między innymi w komórkach immunologicznych, nowotworowych oraz nabłonkowych, które wykazują różne funkcje fizjologiczne, w tym także zapalne [47]. Funkcje biologiczne badanych pochodnych kwasów tłuszczowych przedstawiono w tabeli 2.

PODSUMOWANIE

Niealkoholowe stłuszczenie wątroby (NAFLD) jest najczęściej spotykaną chorobą wątroby w populacji zachodniej. NAFLD jest wątrobową manifestacją zespołu metabolicznego. Spektrum objawów tej choroby obejmuje symptomy takie jak proste stłuszczenie wątroby, które może się rozwinąć do niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby (NASH), marskości wątroby, a nawet raka wątrobowokomórkowego. NAFLD może być powiązane także z objawami

mi towarzyszącymi takimi jak insulinooporność, cukrzyca typu II, otyłość czy też miażdżycę. Pochodne kwasów tłuszczowych: kwasy hydroksyeikozatetraenowe i hydroksyoktadekadienowe należą do prekursorów stanów zapalnych w organizmie człowieka. W wyniku reakcji immunologicznych powstają reakcje zapalne, które mogą doprowadzić do uszkodzenia wątroby, a tym samym doprowadzając do wywołania NAFLD. Obecny złotym standardem do diagnostyki NAFLD jest biopsja wątroby. W związku z częstym występowaniem NAFLD, istotnym jest odnalezienie bezinwazyjnego markera, który pozwoli na szybkie, tanie i skuteczne postawienie trafnej diagnozy NAFLD, dzięki czemu pogłębianie wiedzy i prowadzenie badań dotyczących patomechanizmu NAFLD może się do tego przyczynić.

PIŚMIENNICTWO

1. Cano A, Alonso C (2014) Deciphering non-alcoholic fatty liver disease through metabolomics. *Biochem Soc Trans* 42: 1447-1452
2. Marino L, Jornayvaz F.R (2015) Endocrine causes of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 21: 11053-11076
3. Lonardo A, Bellentani S, Argo CK, Ballestri S, Byrne CD, Caldwell SH, Cortez-Pinto H, Grieco A, Machado MV, Miele L, Targher G (2015) Epidemiological modifiers of non-alcoholic fatty liver disease: Focus on high-risk groups. *Dig Liver Dis* 47: 997-1006
4. Milic S, Lulic D, Stimac D. (2014) Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: Biochemical, metabolic and clinical presentations. *World J Gastroenterol* 20: 9330-9397
5. Brea A, Puzo J (2013) Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk. *Int J Cardiol* 167: 1109-1117
6. Pallayova M, Taheri S (2014) Non-alcoholic fatty liver disease in obese adults: clinical aspects and current management strategies. *Clinical Obesity* 4: 243-253
7. Ferreira VS, Pernambuco RB, Lopes EP, Morais CN, Rodrigues MC, Arruda MJ, Silva LM, Vilar L (2010) Frequency and risk factors associated with non-alcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 54: 362-368
8. Kawano Y, Cohen DE (2013) Mechanisms of hepatic triglyceride accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol* 48: 434-441
9. Bassi N, Karagodin I, Wang S, Vassallo P, Priyanath A, Massaro E, Stone NJ (2014) Lifestyle Modification for Metabolic Syndrome: A Systematic Review. *Am J Med* 127: 1242 e1-10
10. Nava LT, Zambrano JM, Arviso KP, Brochetti D, Becker KL (2015) Nutrition-based interventions to address metabolic syndrome in the Navajo: a systematic review. *J Clin Nurs* 24: 3024-3045
11. Pandey V, Sultan M, Kashofer K, Ralser M, Amstislavskiy V, Starmann J, Osprian I, Grimm C, Hache H, Yaspo ML, Sültmann H, Trauner M, Denk H, Zatloukal K, Lehrach H, Wierling C (2014) Comparative Analysis and Modeling of the Severity of Steatohepatitis in DDC-Treated Mouse Strains. *Plos One* 9(10): e111006
12. Lazo M, Bilal U, Perez-Escamilla R (2015) Epidemiology of NAFLD and Type 2 Diabetes: Health Disparities Among Persons of Hispanic Origin. *Cur Diab Rep* 15: 116
13. Stankowiak-Kulpa H, Swora E, Grzymislawski M (2009) NAFLD – aktualne zasady postępowania. *Nowiny Lekarskie* 78: 330-334
14. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JPT, Lawlor DA, Fraser A (2015) The Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PloS One* 10: e0140908-e
15. Wieckowska A, Feldstein AE (2008) Diagnosis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Invasive versus Noninvasive. *Sem Liver Dis* 28: 386-395
16. Cichoż-Lach H, Celinski K, Prozorow-Krol B, Swatek J, Slomka M, Lach T (2012) The BARD score and the NAFLD fibrosis score in the assessment of advanced liver fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Med Sci Monitor* 18: CR735-CR740


17. Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G (2010) A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol* 53: 372-384
18. Kargulewicz A, Stankowiak-Kulpa H, Grzymislawski M (2012) Assessment of the prevalence of nonalcoholic fatty liver disease among obese Polish people and the estimation of the knowledge of nutritional recommendations. *Nowiny Lekarskie* 81: 611-619
19. Lonardo A, Sookoian S, Pirola CJ, Targher G (2016) Non-alcoholic fatty liver disease and risk of cardiovascular disease. *Metab-Clin Exp* 65: 1136-1150
20. Dietrich P, Hellerbrand C (2014) Non-alcoholic fatty liver disease, obesity and the metabolic syndrome. *Best Practice Res Clin Gastroenterol* 28: 637-653
21. Than NN, Newsome PN (2015) A concise review of non-alcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis* 239: 192-202
22. Lade A, Noon LA, Friedman SL (2014) Contributions of metabolic dysregulation and inflammation to nonalcoholic steatohepatitis, hepatic fibrosis, and cancer. *Cur Opin Oncol* 26: 100-107
23. Marra F, Lotersztajn S. Pathophysiology of NASH: Perspectives for a Targeted Treatment (2013) *Cur Pharml Des* 19: 5250-5269
24. Day CP, James OFW. Steatohepatitis: A tale of two "hits"? (1998) *Gastroenterology* 114: 842-845
25. Duvnjak M, Lerotic I, Barsic N, Tomasic V, Virovic Jukic L, Velagic V (2007) Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 13: 4539-4550
26. Sparks JD, Dong HH (2009) FoxO1 and hepatic lipid metabolism. *Current Opinion in Lipidology* 20(3): 217-226
27. Mazza A, Fruci B, Garinis GA, Giuliano S, Malaguarnera R, Belfiore A (2012) The Role of Metformin in the Management of NAFLD. *Exp Diabetes Res* 2012: 716404
28. Liu J, Xu Y, Hu Y, Wang G (2015) The role of fibroblast growth factor 21 in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease and implications for therapy. *Metab-Clin Exp* 64: 380-390
29. Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C (2009) The multi-hit process and the antagonistic roles of tumor necrosis factor- α and adiponectin in non-alcoholic fatty liver disease. *Hippokratia* 13: 127
30. Yilmaz Y (2012) Review article: is non-alcoholic fatty liver disease a spectrum, or are steatosis and non-alcoholic steatohepatitis distinct conditions? *Aliment Pharmacol Therap* 36: 815-823
31. Berardis S, Sokal E (2014) Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: an increasing public health issue. *Eur J Ped* 173: 131-139
32. Takaki A, Kawai D, Yamamoto K (2013) Multiple Hits, Including Oxidative Stress, as Pathogenesis and Treatment Target in Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH). *Int J Molec Sci* 14: 20704-20728
33. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH (2008) Genetic variation in PNP-LA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nature Gen* 40 1461-1465
34. Qiao A, Liang J, Ke Y, Li C, Cui Y, Shen L, Zhang H, Cui A, Liu X, Liu C, Chen Y, Zhu Y, Guan Y, Fang F, Chang Y (2011) Mouse Patatin-Like Phospholipase Domain-Containing 3 Influences Systemic Lipid and Glucose Homeostasis. *Hepatology* 54: 509-521
35. Kozlitina J, Smagris E, Stender S, Nordestgaard BG, Zhou HH, Tybjaerg-Hansen A, Vogt TF, Hobbs HH, Cohen JC (2014) Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nature Gen* 46: 352-356
36. Macaluso FS, Maida M, Petta S (2015) Genetic background in nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review. *World J Gastroenterol* 21: 11088-11111
37. Eguchi Y, Eguchi T, Mizuta T, Ide Y, Yasutake T, Iwakiri R, Hisatomi A, Ozaki I, Yamamoto K, Kitajima Y, Kawaguchi Y, Kuroki S, Ono N (2006) Visceral fat accumulation and insulin resistance are important factors in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol* 41: 462-469
38. Musso G, Cassader M, De Michieli F, Rosina F, Orlandi F, Gambino R (2012) Nonalcoholic steatohepatitis versus steatosis: Adipose tissue insulin resistance and dysfunctional response to fat ingestion predict liver injury and altered glucose and lipoprotein metabolism. *Hepatology* 56: 933-942
39. Gallego-Duran R, Romero-Gomez M (2015) Epigenetic mechanisms in non-alcoholic fatty liver disease: An emerging field. *World J Hepatol* 7: 2497-2502
40. Cheung O, Puri P, Eicken C, Contos MJ, Mirshahi F, Maher JW, Kellum JM, Min H, Luketic VA, Sanyal AJ (2008) Nonalcoholic Steatohepatitis Is Associated with Altered Hepatic MicroRNA Expression. *Hepatology* 48: 1810-1820
41. da Silva RP, Kelly KB, Al Rajabi A, Jacobs RL (2014) Novel insights on interactions between folate and lipid metabolism. *Biofactors* 40: 277-283
42. Murphy SK, Yang H, Moylan CA, Pang H, Dellinger A, Abdelmalek MF, Garrett ME, Ashley-Koch A, Suzuki A, Tillmann HL, Hauser MA, Diehl AM (2013) Relationship between Methylome and Transcriptome in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 145: 1076-1087
43. Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A (2013) Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Its Connection with Insulin Resistance, Dyslipidemia, Atherosclerosis and Coronary Heart Disease. *Nutrients* 5: 1544-1560
44. Gastaldelli A, Harrison S, Belfort-Aguilar R, Hardies J, Balas B, Schenker S, Cusi K (2010) Pioglitazone in the treatment of NASH: the role of adiponectin. *Aliment Pharmacol Therap* 32: 769-775
45. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, Masciana R, Forgione A, Gabrieli ML, Perotti G, Vecchio FM, Rapaccini G, Gasbarrini G, Day CP, Grieco A (2009) Increased Intestinal Permeability and Tight Junction Alterations in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology* 49: 1877-1887
46. Raszeja-Wyszomirska J, Safranow K, Milkiewicz M, Milkiewicz P, Szykowska A, Stachowska E (2012) Lipidic last breath of life in patients with alcoholic liver disease. *Prostaglandins Other Lipid Mediators* 99: 51-56
47. Powell WS, Rokach J (2015) Biosynthesis, biological effects, and receptors of hydroxyeicosatetraenoic acids (HETEs) and oxoeicosatetraenoic acids (oxo-ETEs) derived from arachidonic acid. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* 1851: 340-355
48. Sobrado M, Pereira MP, Ballesteros I, Hurtado O, Fernandez-Lopez D, Pradillo JM, Caso JR, Vivancos J, Nombela F, Serena J, Lizasoain I, Moro MA (2009) Synthesis of Lipoxin A(4) by 5-Lipoxygenase Mediates PPAR γ -Dependent, Neuroprotective Effects of Rosiglitazone in Experimental Stroke. *J Neurosci* 29: 3875-3884
49. Filipczyk L, Wystrychowski A (2011) Wygaszanie reakcji zapalnej przez pochodne omega-3 i omega-6 wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. *Nefrologia Dializoterapia Polska* 15: 43-52
50. Carroll MA, Balazy M, Margiotta P, Huang DD, Falck JR, McGiff JC (1996) Cytochrome P-450-dependent HETEs: Profile of biological activity and stimulation by vasoactive peptides. *Am J Physiol-Reg Int Comp Physiol* 271: R863-R869
51. Jiang XQ, Li ZH, Jiang SF, Tong XF, Zou XJ, Wang W, Zhang Z, Wu L, Tian D (2016) Lipoxin A4 exerts protective effects against experimental acute liver failure by inhibiting the NF- κ B pathway. *Int J Mol Med* 37: 773-780
52. Radmark O, Werz O, Steinhilber D, Samuelsson B (2015) 5-Lipoxygenase, a key enzyme for leukotriene biosynthesis in health and disease. *Biochim Biophys Acta-Mol Cell Biol Lipids* 1851: 331-339
53. Tsao CC, Foley J, Coulter SJ, Maronpot R, Zeldin DC, Goldstein JA (2000) CYP2C40, a unique arachidonic acid 16-hydroxylase, is the major CYP2C in murine intestinal tract. *Mol Pharmacol* 58: 279-287
54. Grant GE, Rokach J, Powell WS (2009) 5-Oxo-ETE and the OXE receptor. *Prostaglandins Other Lipid Mediators* 89: 98-104
55. Mashima R, Okuyama T (2015) The role of lipoxygenases in pathophysiology; new insights and future perspectives. *Redox Biol* 6: 297-310
56. Reddy YK, Reddy LM, Capdevila JH, Falck JR (2003) Practical, asymmetric synthesis of 16-hydroxyeicosa-5(Z),8(Z),11(Z),14(Z)-tetraenoic acid (16-HETE), an endogenous inhibitor of neutrophil activity. *Bioorg Med Chem Lett* 13: 3719-3720

57. Tsao CC, Foley J, Coulter SJ, Maronpot R, Zeldin DC, Goldstein JA (2000) CYP2C40, a unique arachidonic acid 16-hydroxylase, is the major CYP2C in murine intestinal tract. *Mol Pharmacol* 58: 279-287
58. Morgantini C, Imaizumi S, Grijalva V, Navab M, Fogelman AM, Reddy ST (2010) Apolipoprotein A-I Mimetic Peptide Prevents Atherosclerosis Development and Reduces Plaque Inflammation In A Murine Model of Diabetes. *Diabetes* 59: 3223-3228
59. Kammerer I, Ringseis R, Biemann R, Wen GP, Eder K (2011) 13-hydroxy linoleic acid increases expression of the cholesterol transporters ABCA1, ABCG1 and SR-BI and stimulates apoA-I-dependent cholesterol efflux in RAW264.7 macrophages. *Lipids Health Dis* 10: 222
60. Martinez-Clemente M, Ferre N, Gonzalez-Periz A, Lopez-Parra M, Horrillo R, Titos E, Morán-Salvador E, Miquel R, Arroyo V, Funk CD, Clària J (2010) 5-Lipoxygenase Deficiency Reduces Hepatic Inflammation and Tumor Necrosis Factor alpha-Induced Hepatocyte Damage in Hyperlipidemia-Prone ApoE-Null Mice. *Hepatology* 51: 817-827
61. Weaver JR, Holman TR, Imai Y, Jadhav A, Kenyon V, Maloney DJ, Nadler JL, Rai G, Simeonov A, Taylor-Fishwick DA (2012) Integration of pro-inflammatory cytokines, 12-lipoxygenase and NOX-1 in pancreatic islet beta cell dysfunction. *Mol Cell Endocrinol* 358: 88-95
62. Muro S, Hamid Q, Olivenstein R, Taha R, Rokach J, Powell WS (2003) 5-Oxo-6,8,11,14-eicosatetraenoic acid induces the infiltration of granulocytes into human skin. *J Allergy Clin Immunol* 112: 768-774
63. Niki E (2014) Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material. *Biochim Biophys Acta-Gen Sub* 1840:809-817

NAFLD pathogenesis in the light of recent research

Marcin Banaszczak, Ewa Stachowska 

Department of Biochemistry and Human Nutrition, Pomeranian Medical University, Broniewskiego 24,71-460 Szczecin, Poland

 e-mail: ewast@pum.edu.pl

Key words: Nonalcoholic fatty liver disease, pathogenesis

ABSTRACT

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is one of the most common liver diseases in the world. Nowadays, the number of people with type II diabetes and hypertension is growing. These symptoms belong to metabolic syndrome and the liver manifestation of this disease is NAFLD. Most people suffering from NAFLD are obese but this disease can also affect the lean individuals. This disease in extreme cases can lead to liver fibrosis and cirrhosis. Although NAFLD remains largely asymptomatic for the most of the time it can progress to a severe form of disease called nonalcoholic steatohepatitis (NASH) or even hepatocellular carcinoma. In this review we describe a role of factors that influence NAFLD pathogenesis such as: insulin resistance, epigenetic factors, adipokine dysfunction, intestinal flora disorder, oxidative stress and markers of inflammatory states in the form of fatty acid derivatives.