

Farmakoterapijske mogućnosti u liječenju nealkoholne masne jetre

Zorinić, Roberta

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:173864>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Roberta Zorinić

**Farmakoterapijske mogućnosti u liječenju
nealkoholne masne jetre**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2023.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmakologija Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutskog – biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmakologiju pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Petre Turčić.

Željela bih zahvaliti svojoj mentorici prof. dr.sc. Petri Turčić na svakom savjetu i pomoći tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Hvala ti. Na svemu.

Hvala D, R, L. Na svakoj minuti.

Hvala mojoj obitelji, prijateljima i kolegama što su mi pokazali da su pravi kad sam ih najviše trebala. Sve je u životu u glavi i vrh ove planine je dno nove.

Znaju anđeli, s nama ludima.

SADRŽAJ

| | |
|--|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 1.1. Patofiziologija i etiologija NASH-a i NAFLD-a | 1 |
| 1.1. Epidemiološka slika | 4 |
| 1.2. Dijagnoza NASH-a i NAFLD-a | 5 |
| 1.2.1. Dijagnostičke metode za utvrđivanje stadija fibroze jetre | 6 |
| 2. OBRAZLOŽENJE TEME | 8 |
| 3. MATERIJALI I METODE | 9 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA | 10 |
| 4.1. Nefarmakološke mjere | 10 |
| 4.2. Farmakoterapija NAFLD-a i NASH-a | 11 |
| 4.2.1. Antidijabetici | 11 |
| 4.2.2. Ostali lijekovi | 18 |
| 4.3. Lijekovi za NAFLD i NASH u kliničkim ispitivanjima | 20 |
| 4.3.1. Lijekovi koji ciljaju PPAR receptore | 20 |
| 4.3.2. Lijekovi koji ciljaju receptore za tiroidni hormon tipa β | 22 |
| 4.3.3. Inhibitori ACC | 23 |
| 4.3.4. SCD-1 inhibitori | 24 |
| 4.3.5. DGAT inhibitori | 24 |
| 4.3.6. Inhibitori mitohondrijskog piruvatnog nosača | 25 |
| 4.3.7. GIP/GLP-1 agonisti | 25 |
| 4.3.8. Agonisti farnezoidnih receptora | 26 |
| 4.3.9. ω -3 polinezasićene masne kiseline | 27 |
| 4.3.10. Pirfenidon | 28 |
| 4.3.11. Ostali lijekovi | 28 |
| 4.4. Drugi terapijski pristupi | 29 |
| 4.4.1. Barijatrijska kirurgija | 29 |
| 4.4.2. Transplantacija jetre | 29 |
| 4.4.3. Fekalna transplantacija mikrobiote | 29 |
| 4.5. Uloga ljekarnika | 30 |
| 4.5.1. Probir pacijenata | 30 |
| 4.5.2. Dodaci prehrani | 31 |
| 5. ZAKLJUČAK | 36 |

| | |
|---------------------------------------|----|
| 6. POPIS KRATICA | 37 |
| 7. SAŽETAK/SUMMARY..... | 41 |
| 8. LITERATURA | 43 |
| Temeljna dokumentacijska kartica..... | 46 |

1. UVOD

Povišene razine masnoća u krvi, visoke vrijednosti krvnog tlaka, nekontrolirana tjelesna težina i inzulinska rezistencija (IR) su skup simptoma poznat kao metabolički sindrom koji se sve češće povezuje s nealkoholnom masnom jetrom, NAFLD-om (eng. *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*) i nealkoholnim steatohepatitisom, NASH-om (eng. *Non-alcoholic Steatohepatitis*). NAFLD je najčešća kronična bolest jetre, za koju se smatra da će do 2030. postati glavni razlog transplantacije jetre (Mikolašević i sur., 2016).

Histološki ovu bolest dijelimo bolest u dva tipa - NASH i NAFLD. Kod NAFLD-a, nakupine lipida su prisutne u više od 5% hepatocita, ali nije prisutna upala i raspad hepatocita, dok je u NASH-u prisutna i upala i raspad jetrenih stanica (Virović Jukić i sur., 2021).

Ova bolest dovodi do steatoze jetrenog parenhima koja se razvija bez konzumacije alkohola u količinama koje se smatraju toksičnim za hepatocite. Daljnjim razvojem steatoze može doći do upale, koja može, a i ne mora biti praćenom fibrozom. U zadnjoj fazi bolesti, dolazi do ciroze jetre i potencijalnog razvoja hepatocelularnog karcinoma (Bukmir i sur., 2015).

Bolest je češća u žena, srednje životne dobi, kod osoba povišene tjelesne mase, pacijenata sa šećernom bolesti tipa 2 (ŠBT2) i povećanim vrijednostima masnoća u krvi (Bukmir i sur., 2015). NAFLD se može često razviti i u osoba koje nisu dovoljno fizički aktivne, a određeni rizik predstavljaju i genetski faktori te prehrana bogata fruktozom (Dufour i sur., 2022). Neki autori razmatraju i utjecaj okoliša na razvoj bolesti (Xian i sur., 2021).

Češći uzrok mortaliteta u pacijenata su kardiovaskularne bolesti i neoplazme, a rjeđe fibroza jetre. No, obzirom da su ove bolesti međusobno povezane, u praksi sve češće ova bolest naziva MAFLD (eng. *Metabolic Dysfunction Associated Fatty Liver Disease*). Kod dijagnoze NAFLD-a bitno je izuzeti prisutnost bolesti poput virusnog hepatitisa, ožiljaka nastalih zbog uzimanja lijekova ili uslijed uzimanja alkohola u velikim količinama, autoimunih i nasljednih metaboličkih bolesti jetre (Virović Jukić i sur., 2021).

1.1. Patofiziologija i etiologija NASH-a i NAFLD-a

NAFLD je bolest koja je karakterizirana nakupljanjem lipida u jetri. Previše masti u jetri dovodi do stvaranja međuprodukata poput ceramida i fosfolipida što dalje dovodi do smrti hepatocita i

oštećenja jetre (Dufour i sur., 2022). Velika količina masnog tkiva privlači makrofage koji otpuštaju proupalne citokine poput TNF α (eng. *Tumor Necrosis Factor Type α*) i brojnih drugih (Esler i Bence, 2019).

U serumu pacijenata s dijabetesom melitusom tipa 2 (DMT2) i NAFLD-om, razine interleukina - 1B (IL-1B), interleukina - 6 (IL-6) i TNF α te CRP-a (C-reaktivni protein) su veće od onih bez DMT2. Kod pretilih individualaca upala je praćena IL-6 i TNF α . Ovi upalni faktori aktiviraju različite kinaze koji promoviraju IR-u u jetri. Posljedično, aktivira se transkripcija NF-kB (eng. *Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer Of Activated B Cells*) koji potiče upalu i oksidativni stres te stvaranje upalnih citokina (Xian i sur., 2022).

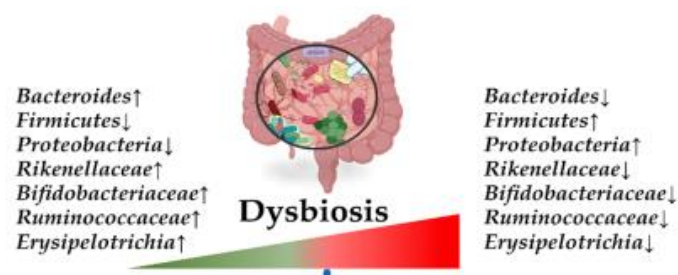
U sklopu genomskih istraživanja, kod pacijenata s NAFLD-om su pronađeni polimorfizmi gena koji djeluju na lipidne puteve (Dufour i sur., 2022). Najvažniji geni su PNPLA3 te TM6SF2 (Attia i sur., 2021), a važnu ulogu imaju i GCKR, MBOAT7, HSD17B13, koji dovode do napretka ove bolesti. Od njih, TM6SF2 je vezan uz povećani rizik razvoja DMT2 i kardiovaskularni rizik. Ovi geni su vezani za IR te metabolizam glukoze i lipida. GCKR inducira *de novo* lipogenezu i jetreni metabolizam glukoze, što dovodi do povećane razine triglicerida, a smanjene razine glukoze. Postoje naznake da određeni polimorfizmi TM6SF2 smanjuju rizik od dijabetesa, što bi bilo u suprotnosti od do sada poznatog (Xian i sur., 2022). Pronađeno je da polimorfizam I48M u PNPLA3 genu povećava rizik za NASH, tako da dovodi do neravnoteže unosa i izlaza TAG (triacilglicerola) u jetru (Esler i Bence, 2019).

Današnja prehrana vezana je uz veliki unos fruktoze koji dovodi do stvaranja velikih količina acetil-CoA koji se pretvara u malonil-CoA, prekursor za sintezu dugolančanih masnih kiselina (Gupta i sur., 2022). U literaturi se sve više spominje tzv. *fruktozom inducirana hepatička lipogeneza* zbog masovnog unosa pića s fruktozom, što značajno povećava rizik za NASH. Za razliku od fruktoze, glukoza u jetri ima jako kontroliran metabolizam povratnom inhibicijom. Fruktoza se uz ketoheksokinazu pretvara u fruktoza -1 – fosfat, koji je supstrat za *de novo* lipogenezu, a potentniji je induktor od fruktoze. Kronični obilni unos fruktoze potiče aktivaciju SREBP-1c (eng. *Sterol Regulatory Element-Binding Protein 1*) i ChREBP (eng. *Carbohydrate Response Element Binding Protein*), također lipogeničnih transkripcijskih faktora, što sve potiče razvoja NAFLD-a (Esler i Bence, 2019).

Th17 (eng. *T Helper 17 Cells*) upala je često prisutna kod pacijenata koji boluju od NAFLD-a. Cilj novih lijekova je inhibirati Th17 odgovor i aktivirati T regulatorni odgovor te inhibirati *de novo* lipogenezu u primarnim T-limfocitima (Esler i Bence, 2019).

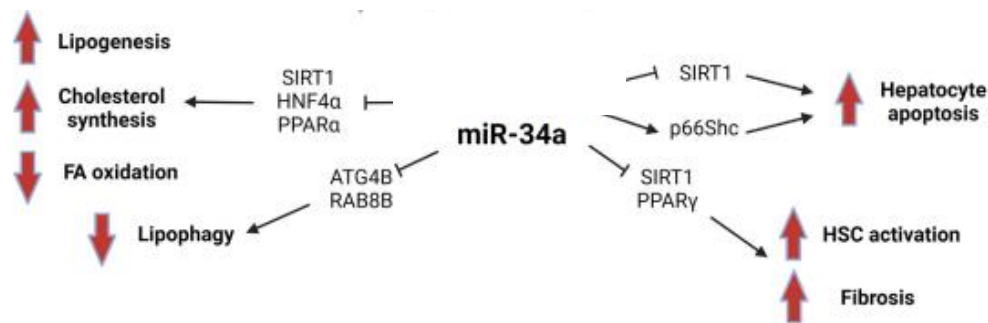
Uz NAFLD se veže i promjena metabolizma željeza, tj. porast njegove koncentracije za 20 – 30%, porast feritina i blago nakupljanje željeza u jetri. Također, uočen je porast tkivnih zaliha željeza – javlja se hiperferitinemija uz urednu ili blago povećanu saturaciju transferina (45-50%) i blaga hemosideroza vidljiva na biopsiji jetre. Feritin kod NAFLD-a iznosi od 1000 – 1500 ng/ml, a koncentracija je proporcionalna broju komponenata metaboličkog sindroma. Povišeno željezo povećava razinu oksidativnog stresa, što posljedično loše utječe na hepatocite (Mikolašević i sur., 2016).

Zbog neravnoteže mikrobioma probavnog trakta, dolazi i do neuravnoteženog metabolizma masti. Do sada je pronađeno osam vrsta bakterija kojih ima dvostruko više u višem stupnju fibroze, a 22 vrste kod umjerene ili blage fibroze (Dufour i sur., 2022). Anatomski položaj portalne vene je blizu područja debelog crijeva. Smatra se da bi uslijed tzv. „leaky guts“, tj. međuprostora između enterocita, moglo doći do propuštanja endotoksina koji bi ovim putem mogli doći do jetre. Visokokalorijska prehrana siromašna vlaknima ne hrani dovoljno crijevnu mikrofloru čija neuravnoteženost dovodi do pada imuniteta, neodgovarajuće energetske regulacije, promjene metabolizma žučnih kiselina i neodgovarajuće sinteze vitamina. Dolazi do povećanog broja patogenih mikroorganizama i do povećane koncentracije endotoksina, ROS-ova (eng. *Reactive Oxygen Species*), koji dodatno povećavaju ulaz endotoksinima, a koji onda također generiraju nove ROS-ove u jetri. Kod pacijenata oboljelih od NASH-a u gastrointestinalnom traktu (GIT) pronađena je *Klebsiella pneumoniae*, koja povećava stvaranje etanola u probavnom traktu, koji putem *v. porte* odlazi u jetru i stvara slobodne radikale kao nusprodukte svog metabolizma. Patogeni mikroorganizmi povećavaju sintezu masnih kiselina što dovodi do propadanja mitohondrija i upale. Disbioza smanjuje produkciju glutaciona. Na slici 1. pokazano je koje bakterijske porodice dominiraju u kod zdravih pojedinaca, a kakav je njihov omjer kod pacijenata koji boluju od NASH-a i NAFLD-a (Gupta i sur., 2022).



Slika 1. Disbioza prisutna u pacijenata koji boluju od NAFLD-a i NASH-a (preuzeto iz Gupta i sur., 2022).

Trenutno su u svijetu istraživanja korelacije mikroRNA (miRNA) kao posttranskripcijskih represora genske ekspresije. Smatra se kako miRNA imaju ulogu degradiranja mRNA i/ili sprječavanja njihove translacije. S druge strane, neke miRNA ostaju u jezgri gdje dovode do aktivacije transkripcije potičući prekrajanje glasničke RNA. Njihova uloga i dalje je predmet brojnih rasprava među istraživačima, pogotovo jer ih pronalazimo u sve više struktura, npr. u krvi kao cirkulirajuće egzosome (Hochreuter MY i sur., 2022).



Slika 2. Pretpostavljeni utjecaji miR-34a na razvoja NAFLD-a, NASH-a i ciroze jetre (preuzeto iz Hochreuter MY i sur., 2022).

Kao što je vidljivo na slici 2., sinteza miRNA – 34a vezana je za regulaciju transkripcije faktora koji sudjeluju u patofiziologiji NAFLD-a. Degradacije miRNA – 34a dovela bi do smanjenja sinteze kolesterola, lipogeneze, apoptoze hepatocita, aktivacije HSC (eng. *Hepatic Stellate Cell*), fibroze, a povećanja β - oksidacije i lipofagije. Smatra se bi ekspresija miRNA mogla biti pokazatelj stupnja progresije NAFLD-a u NASH, tj. da bi ona mogla biti faktor koji će utjecati na prepoznavanje ranih i kasnijih faza bolesti. U progresiji NAFLD-a, za sada se smatra da će ključne biti miRNA-34a, miRNA-122 i miRNA-21. Za sada postoje indicije da bi mogle postojati miRNA koje bi mogle povezati patološke procese kardiovaskularnog sustava s bolestima jetre (Hochreuter MY i sur., 2022).

1.1. Epidemiološka slika

Prema posljednjim podacima, nealkoholna masna jetra najčešći je bolest jetre razvijenih zemalja koju pronalazimo u 17% - 46% odraslih, ovisno o istraživanjima. Europa i Sjedinjene Američke Države po nedavnom istraživanju se kreću između 25% - 37% (Virović Jukić i sur., 2021), dok 30% azijske populacije boluje od NASH-a (Dufour i sur., 2022).

NAFLD je usko povezana s DMT2 i pretilošću. Sudeći po nedavnoj kineskoj studiji, koja je koristila elastografiju za *screening* 1900 ljudi s DMT2, 73% svih pacijenata je imalo NAFLD, dok je 95% njih imalo BMI (eng. *Body Mass Index*) 30 ili veći. Čak 35% svih ispitanika imalo

je izražene faktore rizika, u kombinaciji s već visokim stupnjem fibroze (Dufour i sur., 2022). Ova se bolest rijetko javlja uz DMT1 (Xian i sur., 2022).

NAFLD je česta bolest menadžera, ali može biti prisutna i u djece (Salvoza i sur., 2022). Pacijenti su obično osobe kronično izložene stresu, a nije nužno da je osoba pretila. Tome svjedoči podatak da 43% građana Sjedinjenih Američkih Država kojima je dijagnosticiran NAFLD nije pretilo, dok kod građana Švedske čak 71% pacijenata s NAFLD-om nije pretilo (Dufour i sur., 2022).

U Sjedinjenim Američkim Državama, 25% razloga svih transplantacija je posljedica neliječenog NAFLD-a, što uspoređujući s 2002.-om kada je činila samo 5%, je veliki porast. Također, NAFLD se u svojoj zadnjoj fazi razvija u hepatocelularni karcinom. Često pacijenti ne umiru od samog NAFLD-a, već različitih kardiovaskularnih komorbiditeta ili oboljenja nezvanih uz jetru (Dufour i sur., 2022).

U Republici Hrvatskoj situacija je jednako zabrinjavajuća. Kohortno istraživanje u kojem je sudjelovalo 454 ambulantnih pacijenata sa ŠBT2 pokazalo je da njih 78% ima masnu jetru. Kada bismo u obzir uzeli osobe normalne tjelesne mase, njih je negdje oko 7% s NAFLD-om, češće su to mlađe žene, obično s inzulinskom rezistencijom te hiperkolesterolemijom, a uz urednu sliku jetrenih enzima. Učestalost NAFLD-a u Hrvatskoj pripisuje se onima koje imamo za zapadnu Europu, 20-30%, iako takvi podaci još uvijek nisu potvrđeni istraživanjima (Virović Jukić i sur., 2021).

1.2. Dijagnoza NASH-a i NAFLD-a

NAFLD je vrlo često asimptomatski, dok kod pacijenata koji navode određene simptome, ti su simptomi nespecifični: malaksalost, umor, a kod nekih pacijenata se javlja i slabija bol ispod desnog rebrenog luka (Virović Jukić i sur., 2021).

Kao posljedica NASH-a, mijenjaju se vrijednosti jetrenih enzima, najčešće alanin aminotransferaze (ALT), čije vrijednosti obično budu od 1,5-5 puta veće od referentnih vrijednosti. Kod pacijenata je i povećana vrijednost γ -glutamilttransferaza (GGT), iako se ne radi o alkoholnom oštećenju ili oštećenju lijekovima. Povišeni ALT nije dovoljan dijagnostički kriterij da osoba ima NAFLD ili NASH jer je njegova razina povišena i u drugim bolestima (Virović Jukić i sur., 2021). U laboratorijskoj slici ovi pacijenti najčešće imaju i povišene trigliceride, LDL (eng. *Low-Density Lipoprotein*) i ukupni kolesterol, a HDL (eng. *High-Density Lipoprotein*) im je nizak. Dodatno, povišene su vrijednosti glukoze natašte i

postprandijalno te hemoglobin A1c (HbA1c). Često su povišeni urati, ureja i kreatinin. Nakon pregleda medicinsko – biokemijskih parametara, slikovnom se obradom isključuju drugi uzroci povišenih jetrenih enzima te razmatra postoje li drugi razlozi za bolesti jetre (Virović Jukić i sur., 2021). Kako ovi markeri nisu specifični, novi laboratorijski parametri koji dolaze u budućnosti su citokeratinski fragment 18 (CK18-F), IGF-1 (eng. *Insuline Growth Like Factor I*), ali i serumske razine miRNA (Xian i sur., 2022).

Zbog izostanka simptoma, ova bolest se najčešće otkriva slučajnom kontrolom jetrenih enzima. Također, može se otkriti slikovnim metodama na kojima se uočava steatoza jetre. Pacijenti koji u svojoj dijagnozi imaju metabolički sindrom su obično pretili, boluju od ŠBT2, arterijske hipertenzije, dislipidemije, hipotireoze te apneje, a kod žena je čest i sindrom policističnih jajnika. Kad se pacijentu dijagnosticira neko od ovih stanja, on se uzima u probir za NASH (Virović Jukić i sur., 2021).

1.2.1. Dijagnostičke metode za utvrđivanje stadija fibroze jetre

Za dijagnozu NAFLD-a nije dovoljna neuravnoteženost jetrenih enzima, već slikovne pretrage, kojima se može procijeniti fibroza u NAFLD-u. Ona može biti:

1. odsutna ili blaga (F0 - 1),
2. značajna ($F \geq 2$)
3. uznapredovala ($F \geq 3$),
4. ciroza (F4).

Procjena fibroze jetre je najvažniji faktor u dijagnostici NAFLD-a. Danas koristimo direktne i indirektne indekse fibroze te slikovne metode. Indirektni indeksi su jeftiniji, dostupni, reproducibilni te vrlo dobro negativno isključuju daljnju fibrozu. Direktne indekse, kao što su prokolagen tip III kolagen, prekursor C3-proteina, hijaluronska kiselina i tkivni inhibitor metaloproteinaze 1, su specifičniji, ali i skuplji (Virović Jukić i sur., 2021).

Fibroza se može kategorizirati putem dva indeksa:

1. FIB-4 (eng. *Fibrosis-4 Index For Liver Fibrosis*) (prate se dob bolesnika, vrijednost aspartat aminotransferaze (AST), ALT i broj trombocita)
2. NFS (eng. *NAFLD Fibrosis Score*) (uključuje dob, indeks tjelesne mase (ITM), dijabetes, AST, ALT, broj trombocita i koncentraciju albumina) (Virović Jukić i sur., 2021).

Oba indeksa su vrlo pouzdana, dobro isključuju daljnji napredak fibroze jetre, pogotovo u kombinaciji s drugim metodama (Virović Jukić i sur., 2021).

Slikovne metode koje se najčešće koriste su elastografske (Virović Jukić i sur., 2021). U primjeni su magnetska rezonanca (MR), abdominalni ultrazvuk i CT (eng. *Computed Tomography*) (Xian i sur., 2022). Rezultat MR-a je parametar MRI – PDFF (eng. *Magnetic Resonance Imaging Proton Density Fat Fraction*) koji se često koristi kao relevantan parametar kliničkih ispitivanja po pitanju uspješnosti terapije (Attia i sur., 2021).

U Republici Hrvatskoj najviše se koristi tranzijentna elastografija (TE) i elastografija posmičnih valova. Cilj je utvrditi mehanička svojstva hepatičkog parenhima, tj. promatra se tvrdoća koja proporcionalno raste s povećanjem nakupljanja fibrotičnog tkiva. Ipak, hepatitis, kolestaza ili kongestija jetre, mogu također dovesti do fibrotičnih nakupina, pa ovaj nalaz nije potpuna potvrda NASH-a već se mora uzeti u obzir kombinacija slikovnih metoda i laboratorijskih parametara. Trenutno najpouzdanija metoda je magnetna elastografija, vrlo sofisticirana, no skupa i dugotrajna, pa je rijetka na bolničkim odjelima. (Virović Jukić i sur., 2021). Elastografija korelira s parametrom jetrene tvrdoće. Elastični val je izazvan udarcem, a mjeri se brzina prolaska vala kroz jetreni parenhim (Milić i sur., 2018).

Završna potvrda biokemijskih nalaza i TE je biopsija jetre. Biopsija je skupa, za pacijenta vrlo neugodna metoda. Ipak, ona je najpouzdanija metoda u dijagnostici i odabiru farmakoterapije. Kod većine bolesnika neće se morati raditi biopsija, no kod onih kod kojih slikovne metode i biokemijski parametri daju nejasnu sliku ili postoji sumnja na više bolesti jetre istovremeno, svakako treba provesti biopsiju. Također, ova je metoda trenutno jedina opcija za razlikovanje NASH-a od NAFLD-a. NASH nosi veći rizik za razvoj ciroze koja može prerasti u hepatocelularni karcinom (Virović Jukić i sur., 2021).

Smjernice europskih hepatologa nalažu da je moguće odraditi biopsiju kod pacijenata s više rizičnih čimbenika za progresiju NAFLD-a, NASH-a ili fibroze stupnja F2 i više, primjerice, ako pacijent ima više od dva rizična faktora metaboličkog sindroma, stariji je od 45 godina, a feritin mu je 1,5 ili viši. Biopsija se može ponoviti u roku pet godina kako bi se procijenio stadij NASH-a (Virović Jukić i sur., 2021).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Zbog ubrzanog načina života cjelokupna je populacija u stanju kroničnog stresa, a dodatno, lošem zdravstvenom stanju doprinosi nepravilna prehrana i povremena, ali ne i redovita fizička aktivnost. Iz tih razloga sve se češće dijagnosticira metabolički sindrom, koji je često popraćen i NAFLD-om.

Masna jetra kod pacijenata koji ne konzumiraju alkohol sve je češća, a javlja se ne samo kao posljedica loših prehranbenih navika, već i kao posljedica stresa, tako da se pojavljuje i kod osoba normalnog BMI-ja i djece.

NASH i NAFLD najbrže su rastuće indikacije za transplantaciju jetre i smatra se da će do 2030. postati prve na listi indikacija. Do trenutka pisanja ovog diplomskog rada ne postoji odobrena terapija za NASH, već se terapija primjenjuje „*off-label*“. Smjernice nalažu promjenu životnog stila, no s obzirom na to da se često radi o osobama velikog BMI-ja koje ne uspiju reducirati tjelesnu težinu u rasponu normalnog BMI-ja, kod većine se koristi farmakoterapija.

Cilj ovog diplomskog rada je prikazati trenutne mogućnosti za terapiju NASH-a i NAFLD-a te vidjeti koje su potencijalne nove molekule koje u budućnosti očekujemo za liječenje ove bolesti.

3. MATERIJALI I METODE

U ovom diplomskom radu korištena je stručna literatura iz područja farmakologije, hepatologije, gastroenterologije, patologije i patofiziologije kao i stručni članci vezani za temu NASH-a i NAFLD-a. Literatura je pretraživana od općih prema usko specijaliziranim temama u bibliografskim bazama PubMed, Hrčak, Science Direct, Cochrane Library, Hrvatska agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED), Europska agencija za lijekove i medicinske proizvode (EMA), FDA (eng. *U.S. Food And Drug Administration*), i drugi, a pretraživane su ključne riječi: *non alcoholic liver disease, NASH, NAFLD, non fatty liver disease, pharmacological options for NASH, herbal products for NASH, guidelines NASH, green tea NASH, antioxidants, herbal therapy NASH, diagnostics NASH, treatment options NASH.*

Ovaj rad prikazuje mehanizme djelovanja, fiziološke učinke, kontraindikacije i probleme novih lijekova kao i njihovih meta. S obzirom na velik broj pacijenata u ovom području, brojne su molekule u fazama istraživanja, no u radu su uzete samo one koje imaju potencijala za daljnji razvoj i registraciju.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Glavni cilj u liječenju NASH-a je očuvati funkcionalnu jetru, a uz to onemogućiti daljnji razvoj drugih metaboličkih poremećaja kao što su dijabetes, hipertenzija i hiperlipidemija i time kardiovaskularne komplikacije (Barton Duell i sur., 2022).

Zanimljiva je činjenica da do sada ne postoji ni jedna odobrena terapija za NAFLD, pa se lijekovi primjenjuju *off-label*. Veliki problem predstavlja činjenica da ne postoji dogovor oko parametra koji bi se promatrao kao izravna procjena razine fibroze jetre što otežava odobrenje nove farmakoterapije, iako je mnogo novih lijekova u razvoju (Dufour i sur., 2022).

4.1. Nefarmakološke mjere

Neuravnotežena prehrana i manjak fizičke aktivnosti su česti kod pacijenata s NASH-om, odnosno NAFLD-om. Nefarmakološke mjere prva su linija u terapiji NAFLD-a, no kako studije pokazuju, samo 3-6% pacijenata uspije smanjiti i održati tjelesnu težinu (Xian i sur., 2022).

Cilj u liječenju NAFLD-a je smanjiti tjelesnu masu pacijenata na $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$, uz minimalan pad tjelesne težine za 5-10% godišnje. Smanjenje tjelesne mase od 5% dovodi do smanjenja steatoze, 7% do smanjenja upale u jetri i smanjenja intolerancije na glukozu, a 10% dovodi do smanjenja fibroze. Provedena su istraživanja koja pokazuju da niskokalorijska dijeta koja uključuje unos 750 kcal dnevno i fizičku aktivnost od 200 minuta tjedno tijekom godine dana usporava napredak bolesti, a čak dovodi i do nestanka NASH-a, tj. fibroze (Virović Jukić i sur., 2021).

Najviše dokaza ima za tzv. mediteransku prehranu koja je bogata maslinovim uljem, povrćem, voćem, orašastim plodovima, leguminozama, cjelovitim žitaricama i ribom, sa smanjenim unosom crvenog mesa. Preporučuje se smanjiti unos ugljikohidrata na 40% ukupnih kalorija te smanjiti unos šećera. Zasićene masti povećavaju masnoću jetre više nego polinezasićene i mononezasićene masti. Prednost mediteranske prehrane je u tome što je povećan unos nezasićenih masti te smanjen unos tzv. procesuirane hrane koja ima dodane šećere, masti, a loše je nutritivne vrijednosti (Dufour i sur., 2022). Potrebno je smanjiti unos alkohola na 30 g dnevno za muškarce, odnosno 20 g za žene (Virović Jukić i sur., 2021).

Pacijentu je potrebno savjetovati povećanje tjelesne aktivnosti koja smanjuje BMI, povećava potrošnju masti iz adipocita te smanjuje kardiovaskularni rizik. Za sada je poznato da kod pacijenata koji su se bavili nekim sportom više od 150 minuta tjedno, dolazi do pada ALT-a

neovisno o smanjenju BMI-ja. Nadalje, pokazano je da tjelesna aktivnost kod NAFLD-a smanjuje razinu steatoze. Preporuka je da vježbe budu aerobne ili vježbe s opterećenjem (Virović Jukić i sur., 2021).

4.2. Farmakoterapija NAFLD-a i NASH-a

Današnja farmakoterapija NAFLD-a usmjerena je prema pojedinim komponentama metaboličkog sindroma. Kao što je ranije rečeno, prvi odabir za liječenje su nefarmakološke mjere, no ovaj će se rad usmjeriti na farmakoterapijske opcije koje su danas dostupne. Prije svega, potrebno je procijeniti stupanj napredovanja bolesti, tj. koliki je stupanj progresije u fibrozu, odnosno upalu koja u svom kroničnom obliku može dovesti do ciroze, pa čak i do hepatocelularnog karcinoma (Mikolašević i sur., 2016).

Današnje smjernice europskih društava preporučuju farmakoterapijsko liječenje pacijenata:

1. S rizikom razvoja NASH-a
2. Stupnjem fibroze F2 ili više
3. Koji imaju značajne rizike za progresiju fibroze i ciroze, a to su:
 - a. stariji od 50 godina,
 - b. ŠBT2,
 - c. metabolički sindrom,
 - d. povišen ALT,
 - e. histološki vidljiva upala

kod kojih se nefarmakološkim pristupom nisu ostvarili zadovoljavajući ishodi (Virović Jukić i sur., 2021).

4.2.1. Antidijabetici

Istraživanja pokazuju da preko 50 % pacijenata s NAFLD-om ima dijagnosticiran DMT2, a oko 50 % pacijenata s NAFLD-om ima znakove predijabetesa koji mogu dovesti do razvoja DMT2. Kako je ranije navedeno, inzulinska rezistencija za sada se smatra jednim od glavnih uzročnika nealkoholne masne jetre te se stoga antidijabetici primjenjuju u svrhu prevencije razvoja NAFLD-a (Mikolašević i sur., 2016).

4.2.1.1. Pioglitazon

Pioglitazon spada u skupinu tiazolidindionskih antidijabetika, koji se jedini koristi u kliničkoj praksi, dok je troglitazon povučen zbog hepatotoksičnosti, a roziglitazon zbog kardiotoksičnosti (Nolthe, ured., 2011).

Pioglitazon je agonist PPAR γ (eng. *Peroxisome Proliferator-Activated Receptors Type γ*) receptora koji pripada superporodici steroidnih i tireoidnih nuklearnih receptora. Općenito, PPAR receptori se mogu naći u miocitima, adipocitima te hepatocitima, ali i vaskularnom endotelu, imunskim stanicama, jajnicima i karcinomskim stanicama. PPAR γ utječe na gene uključene u metabolizam lipida, glukoze te diferencijaciju stanica masnog tkiva (Nolthe, ured., 2011). Mehanizam djelovanja temelji se na vezanju PPAR γ za retinoični receptor. Aktivacijom ovih receptora dolazi do diferencijacije masnih stanica što dovodi do povećanja tjelesne težine i povećanja lipogeneze (Todorović, ured., 2019b). Pronađeno je da djeluje i na PPAR α receptore (Nolthe, ured., 2011).

Tiazolidindioni smanjuju oslobađanje glukoze iz jetre i povećavaju preuzimanje glukoze u mišiće. Smanjuju razinu inzulina i slobodnih masnih kiselina u plazmi, ali ne utječu na LDL i HDL. Povećavaju volumen plazme i izvanstanične tekućine te dolazi do odlaganja potkožnog masnog tkiva. Potiču apsorpciju iona natrija, pa dolazi do zadržavanja vode. Uobičajeno je povećanje mase za 1 - 4 kg, a stabilizacija mase se vidi kroz 6 - 12 mjeseci (Todorović, ured., 2019b). Djeluju na gene pa je početak djelovanja spor, a prestanak djelovanja traje tjednima ili mjesecima. Rijetko može doći do makularnog edema. Terapija ovim lijekom smanjuje smrtnost i makrovaskularne događaje, kao što su moždani udar i infarkt miokarda. (Nolthe, ured., 2011).

Pioglitazon se dobro i brzo apsorbira, veže se za proteine plazme, a njegov metabolit ima dugo poluvrijeme života. Metabolizira se putem CYP3A4 i CYP2C8 (Todorović, ured., 2019b). Eliminira se putem žuči (Nolthe, ured., 2011). Hrana može utjecati na odgodu apsorpcije lijeka (Virović Jukić i sur., 2021).

Najčešće nuspojave su glavobolja i probavne smetnje. Pioglitazon može izazvati ovulaciju kod pacijentica sa sindromom policističnih jajnika (Todorović, ured., 2019b). Kod dugotrajnog liječenja, može uzrokovati i smanjeno nakupljanje osteoblasta pa je povećan broj prijeloma kod žena (Nolthe, ured., 2011). Sve više autora navodi rizik od razvoja karcinoma mokraćnog mjehura (Kanižaj Filipec i sur., 2020) i karcinoma gušterače (Virović Jukić i sur., 2021).

Klinički značajna je interakcija pioglitazona s oralnom kontracepcijom koja sadrži estrogen. Kontraindiciran je kod trudnoće ili ako je ALT više od 2,5 puta veći od preporučenog te pri

zatajenju srca (Nolthe, ured., 2011), kod pacijenata klase NYHA (eng. *New York Heart Association Classification*) III i IV (Powel i sur., 2021).

Posljednje europske smjernice za NASH preporučuju ovaj lijek za pacijente s progresijom, visokim rizikom, odnosno biopsijom dokazanim NASH-om zbog učinkovitosti u poboljšanju jetrene histologije kod pacijenata s ili bez ŠBT2 (Prihodko i sur., 2022). Pioglitazon smanjuje steatozu djelujući na adiponektin. Kod pacijenata koji imaju NASH, ali nemaju ŠBT2, djeluje i na fibrozu (Virović Jukić i sur., 2021).

Ako pacijent ima povišen ALT, a smanjenja vrijednosti ALT-a nema u roku šest mjeseci, terapiju je potrebno ponovno procijeniti. Za pacijente s ALT-om u referentnom rasponu, smjernice još nisu do kraja jasne (Virović Jukić i sur., 2021).

Doziranje obično počinje s 15-30 mg/dnevno, uz postupno povećanje do 45mg/dnevno (Virović Jukić i sur., 2021). Uobičajena terapija je pioglitazon u kombinaciji s inkretinima koji zajedno utječu na smanjenje steatoze jetre (Mikolašević i sur., 2016). Kombinira se i s metforminom (Virović Jukić i sur., 2021).

4.2.1.2. GLP-1 agonisti

Inkretine, peptidne hormone, proizvode K-stanice GIT-a, a oni su GLP-1 (eng. *Glucagon Like-Peptide Type 1*), GIP (eng. *Gastric Inhibitory Peptide*) te oksintomodulin (Prihodko i sur., 2022).

Inkretini moduliraju GLP-1 receptore koji se nalaze u β -stanicama gušterače, hepatocitima, bijelom masnom tkivu, mozgu i skeletnim mišićima. Aktivacijom ovih receptora dolazi do povećanog izlučivanja inzulina, smanjenja inzulinske rezistencije, inhibicije izlučivanja glukagona, a također smanjuju apetit i gastrointestinalni motilitet. U jetri dolazi do stimulacije β -oksidacije i inhibicije profibrogenih signalnih puteva. Smanjuju CRP i stvaranje kemokina te tako smanjuju upalu (Prihodko i sur., 2022).

U našem je organizmu endogeno prisutan inkretin GLP-1 - snažan stimulator sinteze i otpuštanja inzulina. On inhibira izlučivanje glukagona, usporava pražnjenje želuca i ima anoreksični učinak (Nolthe, ured., 2011). Smanjenje tjelesne težine smanjuje produkciju IL-1, jednog od glavnih proupalnih citokina adipocita. Studije provedene na animalnim modelima pokazale su da uz manjak IL-1 ne može doći do progresije steatoze u steatohepatitis i jetrenu fibrozu (Dufour i sur., 2022). Nakon oralnog unosa glukoze, zajedno s GIP-om, GLP-1 odgovara za 70% izlučenog inzulina (Nolthe, ured., 2011). Dodatno, smanjuje nakupljanje

masti u jetri (Todorović, ured., 2019b) te regulira mikrobiotu crijeva (Esler i Bence, 2019). GLP-1 agonistički djeluje preko G-proteina, što dovodi do izravnog smanjenja jetrene steatoze preko GLP-1 receptora na hepatocitima. *In vitro* se pokazalo i da potiču β -oksidaciju i *de novo* lipogenezu (Jung i sur., 2019).

Kontraindicirani su u slučaju akutnog pankreatitisa, a rijetko mogu izazvati akutno oštećenje bubrega. Semaglutid je u rijetkim slučajevima povećao komplikacije dijabetičke retinopatije (Powel i sur., 2021).

Semaglutid je prošao fazu II kliničkih ispitivanja kroz 72 tjedna s 320 pacijenata koji su koristili dozu od 0,4 mg, gdje kod 56% pacijenata nije došlo do progresije fibroze, a 20% isti učinak postiže na placebo. Ovaj lijek dovodi do značajne redukcije tjelesne težine (Dufour i sur., 2022), smanjuje ALT i CRP (Xian i sur., 2022). Od nuspojava javljaju se probavne smetnje (Dufour i sur., 2022). U tijeku su ispitivanja semaglutida u kombinaciji s empagliflozinom ili cilofeksorom i firsokostatom (Prihodko i sur., 2022).

Drugi GLP-1 agonist, liraglutid, doveo je do smanjenja progresije fibroze i steatoze. Dolazi do smanjenja BMI-ja, ali uz česte gastrointestinalne nuspojave (Virović Jukić i sur., 2021). Uz njega su vezane brojne kliničke studije gdje je ostvario zadane ishode. Najpoznatija je tzv. LEAN (*Liraglutid Efficacy and Action in NASH*) studija koja se provodila 48 tjedana, na 52 pacijenta, koristeći dozu od 1,8 mg liraglutida. Nije došlo do nestanka NASH-a, ali je smanjen *ballooning*, a viđeni su i ranije spomenuti učinci smanjenja steatoze i progresije fibroze. Druga LEAN studija, provedena u Japanu, koristila je 0,9 mg/dnevno kroz 24 tjedna kod pacijenata s IR-om. Došlo je do smanjenja BMI-ja, visceralne masti te aminotransferaza. Histološki nalaz je poboljšán u 60% pacijenata. Pokazano je da 1,8 mg liraglutida poboljšava inzulinsku osjetljivost jetre, što smanjuje jetrenu glukoneogenezu i povećava osjetljivost adipocita na inzulin. U toj dozi, povećava aktivnost inzulina pa dolazi do smanjenja lipolize, što dovodi do smanjenog stvaranja lipotoksičnih produkata i upalnih citokina. Pokazano je i da liraglutid smanjuje *de novo* lipogenezu u jetrenim stanicama (Jung i sur., 2019).

Ipak, treba uzeti u obzir da su provedene i neke randomizirane kliničke studije drugačijih rezultata koje ukazuju na vrlo malo smanjenje jetrene masnoće i to i u manjim i u većim dozama, čak i u kombinaciji s metforminom. Ovakve se podatke pokušalo objasniti činjenicom da GLP-1 analozi potiču smanjenje sekrecije glukagona, što dovodi do postprandijalnog porasta inzulina u portalnoj cirkulaciji koji potiče lipogenezu, pa je zbog toga smanjen efekt liraglutida na hepatsku steatozu (Jung i sur., 2019).

Također, u drugim istraživanjima, eksenatid, liksisenatid, liraglutid i dulaglutid su pokazali značajnu antisteatotsku aktivnost. Nedavna meta analiza, koja uključuje osam randomiziranih kliničkih studija i preko 600 pacijenata, pokazala je da agonisti GLP-1 poboljšavaju jetrenu funkciju i histologiju poboljšavajući glikemiju, smanjujući tjelesnu težinu i jetrene masnoće, što dovodi do smanjenja upale i stvaranja ROS-ova kod pacijenata s NAFLD-om i T2DM (Prihodko i sur., 2022).

4.2.1.3. SGLT-2 inhibitori

SGLT-2 (eng. *Sodium-Glucose Transporter Type 2*) inhibitori su skupina antidijabetika koji potiču izlučivanje glukoze urinom tako što inhibiraju SGLT-2 prijenosnik u proksimalnim tubulima nefrona. Ovi lijekovi su odobreni za oralnu antidijabetičku terapiju te zatajenje srca zbog smanjenja perifernog vaskularnog otpora (Dufour i sur., 2022) i sistoličkog tlaka (Attia i sur., 2021).

Glikozurija dovodi do smanjenja BMI-ja, uglavnom zbog gubitka masnog tkiva. Povećavaju osjetljivost na inzulin, smanjuju lipotoksičnost, hepatičku apoptozu i upalu. Uz to, ovi lijekovi djeluju i na SREBP-1c i ChRBEP, što dovodi do smanjenja *de novo* lipogeneze i pojačane oksidacije masnih kiselina. (Jung i sur., 2019). Ovi lijekovi potiču glikogenolizu i inhibiraju stvaranje leptina u adipocitima, što dovodi do smanjenja apetita. Povećavaju razine adiponektina, suprimiraju HSC aktivaciju i fibrogenezu. Inhibiraju simpatičku aktivnost i potiču aktivnost vagusa čime se onemogućuje aktivacija Kupferovih stanica u jetri i upala hepatocita (Dufour i sur., 2022).

Najčešće nuspojave su urogenitalne infekcije, a od ozbiljnijih euglikemijska dijabetička ketoacidoza (Esler i Bence, 2019). Neke studije pokazuju da SGLT-2 inhibitori povećavaju rizik od lomova kostiju. Kontraindicirani su ako je eGFR (eng. *Estimated Glomerular Filtration Rate*) manji od 45 ml/min (Powel i sur., 2021).

U usporedbi s GLP-1 agonistima, kod pacijenata sa ŠBT2, SGLT-2 inhibitori dovode do značajnijeg smanjenja jetrenih nakupina lipida nego GLP-1 agonisti (Esler i Bence, 2019). SGLT2 inhibitori više snizuju ALT od GLP-1 agonista, a neki autori posebno ukazuju na opasnost da inkretinski mimetici inhibiraju lučenje glukagona, pa mogu dovesti do većeg oštećenja jetre, dok SGLT2 inhibitori potiču lučenje glukagona (Jung i sur., 2019).

Dosadašnji dokazi najviše idu u prilog ovim lijekovima kao onima koji poboljšavaju jetrenu funkciju, steatozu i fibrozu kod pacijenata koji imaju NAFLD i T2DM. U ovoj skupini, samo

dapagliflozin, empagliflozin, i kanagliflozin pokazuju rezultate i kod nedijabetičkih pacijenata s NAFLD-om. Dapagliflozin u dozi u 10 mg/dnevno snizuje AST, ALT i GGT, a empagliflozin u istoj dozi smanjuje steatozu i jetrenu tvrdoću, što govori o njegovom antifibrotičnom učinku. Kanagliflozin u dozi od 100 mg dnevno poboljšava jetrene probe i FIB-4 indeks (Dufour i sur., 2022) te feritin (Jung i sur., 2019). Empagliflozin smanjuje steatozu, *balooning* i fibrozu. Poboljšava ALT u dijabetičara s NAFLD-om (Xian i sur., 2022). Dovodi do smanjenja HbA1c i BMI-ja te MRI-PDFF-a (Jung i sur., 2019). Kod pacijenata s dijabetesom, ipragliflozin u dozi 50 mg/dnevno kroz 72 tjedna smanjio je jetrenu fibrozu. Remogliflozin etabonat 50–1000 mg/dnevno kroz 12 tjedana smanjio je FIB-4. Ertugliflozin u dozi 15 mg/dnevno kroz 52 tjedna doveo je do smanjenja transaminaza. Noviji, luseogliflozin i tofogliflozin pokazuju antisteatotske učinke (Dufour i sur., 2022).

Aktualna su istraživanja inhibitora SGLT-1, transportera koji se nalazi u crijevima, a koji ima ulogu apsorpcije glukoze i galaktoze i povećanja lučenja inkretina iz enteroendokrinih stanica. Likogliflozin je jedini SGLT1/2 inhibitor koji se ispituje za NASH bez T2DM, u kombinaciji s agonistima farnezoidnih receptora. Trenutne studije pokazuju da likogliflozin u dozi 150 mg dnevno smanjuje ALT, AST i GGT i jetrene masnoće kroz 12 tjedna u usporedbi s placebom (Dufour i sur., 2022).

4.2.1.4. Metformin

Metformin dovodi do smanjenja proizvodnje glukoze aktivacijom AMPK (eng. *AMP-activated protein kinase*). Smanjuje glukoneogenezu u bubrezima (Nolthe, ured., 2011) i jetri (Mikolašević i sur., 2016), usporava apsorpciju glukoze iz GIT-a te povećava pretvorbu glukoze u laktat u enterocitima. Izravno stimulira glikolizu u tkivima, povećava odstranjivanje glukoze iz krvi i smanjuje razinu glukagona u krvi. Snizuje glukozu u krvi (GUK) neovisno o radu β - Langerhansovih otočića, pa rjeđe dolazi do hipoglikemije (Nolthe, ured., 2011). Smanjuje lipogenezu u jetri i serumske koncentracije lipida (Mikolašević i sur., 2016). Snizuje razine jetrenih enzima (Virović Jukić i sur., 2021), smanjuje tjelesnu težinu i povećava osjetljivost na inzulin (Xian i sur., 2022). Eliminira se isključivo bubrezima, a slabo se veže za proteine plazme (Nolthe, ured., 2011).

Lijek je kontraindiciran u pacijenata s povećanim rizikom od laktacidoze, kroničnim zatajenjem srca, zatajenjem jetre ili bubrega. Rizik postoji i za pacijente koji su kronični alkoholičari (Nolthe, ured., 2011).

Često se javljaju mučnina, povraćanje i proljev kao nuspojave ovisne o dozi, a obično prođu kroz kraći vremenski period. Pojavljuju se u manje od 20% pacijenata. Redovna uporaba metformina dovodi do smanjene apsorpcije vitamina B12, pa se preporučuje jednom godišnje kontrolirati status (Nolthe, ured., 2011).

Velika randomizirana studija pokazala je da terapija metforminom nema značajnijeg učinka u odnosu na placebo, tako da je njegova primjena i dalje upitna u ovu svrhu (Mikolašević i sur., 2016). Novije studije pokazuju da metformin ne utječe na jetrenu histologiju (Attia i sur., 2021), a jedino što je potvrđeno je da smanjuje rizik hepatocelularnog karcinoma (Kanižaj Filipec i sur., 2020).

4.2.1.5. Inhibitori α - glukozehidaze

α -glukozehidaza je ugljikohidratna hidrolaza koja se nalazi u četkastoj prevlaci tankog crijeva koja hidrolizira disaharide u glukozu. Njeni inhibitori usporavaju razgradnju i apsorpciju ugljikohidrata, pa posljedično smanjuju postprandijalnu hiperglikemiju. Ipak, rijetko se koriste zbog slabog antidijabetičkog učinka i izraženih gastrointestinalnih nuspojava (Dufour i sur., 2022).

Akarboza u dozi od 100 mg dnevno dovodi do poboljšanja AST-a i ALT-a. Miglitol je korišten u dozi 150 mg dnevno kroz 12 mjeseci i došlo je do značajnog poboljšanja steatoze, lobularne upale, ali nije došlo do poboljšanja fibroze i *balooninga* hepatocita (Dufour i sur., 2022).

4.2.1.6. DPP-4 inhibitori

U cilju produljenja poluživota inkretina, pacijentima se daje inhibitor dipeptidil peptidaze 4 (DPP-4) koji produljuje vrijeme poluživota inkretina, dok sami DPP-4 inhibitori ne pokazuju terapijski učinak (Xian i sur., 2022).

U ovoj grupi lijekova, samo sitagliptin 100 mg dnevno se pokazao učinkovitim za steatozu u jednogodišnjoj randomiziranoj kliničkoj studiji. Vildagliptin (100mg/dnevno), saksagliptin (5mg/dnevno), omarigliptin (25mg/tjedno), teneligliptin (20mg/dnevno) pokazali su poboljšanje jetrene funkcije. Alogliptin u dozi 25 mg/dnevno jedini se pokazao učinkovit za NASH kroz 12 mjeseci primjene na pacijentima s T2DM-om (Prihodko i sur., 2022).

4.2.2. Ostali lijekovi

4.2.2.1. Statini

Nefunkcionalni metabolizam masti može i ne mora biti prisutan kod ovih pacijenata, baš kao i pretilost, tako da se broj onih kojima je poremećen metabolizam masti kreće u širokom rasponu, od 27– 92 %. Ipak, povišene razine masnoća u krvi nisu rijetke kod pacijenata koji boluju od kardiovaskularnih bolesti i bolest jetre (Mikolašević i sur., 2016).

Statini su strukturni analozi hidrosimetilglutaril-koenzima A (HMG-CoA), odnosno oni su kompetitivni inhibitori HMG-CoA reduktaze. Najdjelotvorniji su u snižavanju LDL-a, a uz to smanjuju i oksidativni stres te upalu krvnih žila čime smanjuju mogućnost ateroskleroze (Malloy i Kane, ured., 2011).

Statini inhibiraju prvi korak sinteze kolesterola pa ne dolazi do sinteze mevalonata. Povećava se broj LDL receptora te se stoga povećava potrošnja LDL-a, što posljedično snižuje LDL u krvi. Upravo zbog izraženog metabolizma prvog prolaska, najznačajniji učinak ovaj lijek pokazuje u jetri. Statini se koriste u smanjenju učestalosti novih koronarnih događaja i aterotrombotskih moždanih udara zbog učinkovitog smanjenja razine LDL-a (Malloy i Kane, ured., 2011).

Uporaba statina dovodi i do smanjenja agregacijskog učinka trombocita, povećanja neovaskularizacije ishemijskog tkiva te povećanja cirkulacije endotelnih progenitorskih stanica. Djeluju antitrombotski, pojačavaju fibrinolizu te djeluju imunosupresivno i štite od sepse (Todorović, ured., 2019a).

Nakon početka terapije potrebno je pratiti vrijednosti jetrenih enzima kroz 1-2 mjeseca, a potom svakih 6-12 mjeseci ako su stabilne. Moguć je blagi porast kreatin kinaze (CK), a ako dođe do većeg porasta može doći do miopatija, u težim slučajevima mioglobinurija, a posljedično do bubrežnih oštećenja. Miopatije su češće u politerapiji i reverzibilne su (Malloy i Kane, ured., 2011), te su češće kod osoba slabije građe ili s hipotireozom (Todorović, ured., 2019a). Genski polimorfizam organskog anionskog transportera tipa 1B1 (OATP1B1) povezan je s teškom miopatijom i rabdomiolizom uzorkovanom statinima. Rijetko se pojavljuje hipersenzitivni sindrom, koji se očituje poremećajem nalik lupusu i perifernom neuropatijom (Malloy i Kane, ured., 2011). Statini mogu dovesti i do angioedema (Todorović, ured., 2019a).

Atorvastatin se metabolizira preko CYP3A4, a rosuvastatin preko CYP2C9. Atorvastatin je potrebno pratiti zbog interakcija s makrolidima, ciklosporinom, azolima, inhibitorima HIV-

proteaza, takrolimusom i fibratima. Povećan rizik od miopatija može se pojaviti kod istovremene primjene amiodarona i verapamila s atorvastatinom. Nasuprot tome, fenitoin, grizeofulvin, barbiturati i rifampicin te tiazolidindioni povećavaju ekspresiju CYP3A4 te mogu smanjiti koncentraciju atorvastatina. Inhibitori CYP2C9, poput azola, metronidazola, amiodarona i cimetidina mogu povećati razine rosuvastatina u plazmi. Statini odliježu prvom prolasku kroz jetru, većinom se izlučuju putem žuči, a tek manji postotak mokraćom. Poluvrijeme raspada je do tri sata, osim za rosuvastatin čije je poluvrijeme 19 sati, odnosno atorvastatin 14 sati (Malloy i Kane, ured., 2011).

Istraživanja statina u području NAFLD-a pokazala su da simvastatin reducira količinu LDL-a (Mikolašević i sur., 2016), uz 71 % smanjenje rizika za steatozu nakon četiri godine primjene u kombinaciji s vitaminom C i vitaminom E (Xian i sur., 2022). Kliničke studije su pokazale da 10 mg/dnevno rosuvastatina poboljšava histološki nalaz jetre kod pacijenata (Mikolašević i sur., 2016).

Iako se ranije smatralo da je primjena statina kod pacijenata s kroničnim bolestima jetre štetna, kod pacijenata s NAFLD-om smanjuje kardiovaskularni rizik. Statini kao jednu od glavnih nuspojava imaju prolazni porast vrijednosti aminotransferaza, no taj porast ne dovodi do fibroze tako da to nije nužno razlog za prekid terapije statinima dugoročno, već eventualan prekid uz nastavak nakon korekcije serumskih vrijednosti (Mikolašević i sur., 2016). Trebalo bi ih se izbjegavati kod pacijenata s dekompenziranom cirozom i cirozom općenito (Griffin i Bahirwani, 2022). Za sada nema saznanja kako djeluju na progresiju NASH-a, kronične bubrežne bolesti ili nekih drugih bolesti. (Mikolašević i sur., 2016).

4.2.2.2. Inhibitori renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava

Istraživanja pokazuju da i do 70 % pacijenata s NAFLD-om boluju od arterijske hipertenzije koju često liječimo inhibitorima renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava (Mikolašević i sur., 2016).

S obzirom na njihovo povoljno djelovanje na bubrege gdje ostvaruju antifibrotični učinak, prva su linija za liječenje dijabetičke nefropatije. Danas se koriste za liječenje povišenog krvnog tlaka i NAFLD-a, gdje novija istraživanja pokazuju u smjeru smanjenja razvoja NAFLD-a. Još nedokazani, ali pretpostavljeni mehanizmi upućuju na inhibitore RAAS-a kao one koji:

1. smanjuju proizvodnju citokina
2. povećavaju količinu adiponektina

3. pojačavaju lučenje inzulina iz β - stanica Langerhansovih otočića gušterače
4. antifibrotično djeluju na stelatne stanice jetre (Mikolašević i sur., 2016).

4.2.2.3. Bempedoična kiselina

Ova je molekula slična oleinskoj i linolenskoj kiselini koje moduliraju metaboličke puteve u jetri dovodeći do pojačanog katabolizma masnih kiselina (Prihodko i sur., 2022).

Nakon aktivacije, bempedoična kiselina je „lažni“ supstrat koji inhibira hepatsku adenozin trifosfat citrat (pro-S) – liazu, enzim u sintezi kolesterola. Bempedoična kiselina je odobrena kao monoterapija i kao fiksna kombinacija s ezetimibom za hiperkolesterolemiju. Dovodi do smanjenja ALT-a, AST-a, smanjenja jetrenog nakupljanja triglicerida, smanjenja upale i smanjene profibrotične ekspresije gena, što se vidi na histološkom nalazu jetre (Prihodko i sur., 2022).

4.2.2.4. Pentoksifilin

Pentoksifilin inhibira sintezu TNF α , proupalnog citokina u NAFLD-u. Česte nuspojave uključuju mučninu, povraćanje, povećan lipidni status i svrbež (Takahashi i sur., 2015).

4.3. Lijekovi za NAFLD i NASH u kliničkim ispitivanjima

Dosadašnja otkrića o nealkoholnoj masnoj jetri kao bolesti kompleksne patologije dovela su do toga da se nove farmakološke mete nalaze po cijelom organizmu. Kao što je već rečeno, danas službeno odobrene terapije još nema, a kao klinički ishodi, između ostalih, prati se stupanj fibroze jetre (Dufour i sur., 2022).

Cilj novih lijekova je otkloniti NASH u potpunosti te smanjiti fibrozu. Kombiniranjem različitih lijekova moguće je otkloniti metaboličke disfunkcije i kontrolirati oštećenja jetre, bilo intravenoznim davanjem lijekova u težim, odnosno oralnom terapijom u kontroliranim oblicima bolesti (Dufour i sur., 2022).

4.3.1. Lijekovi koji ciljaju PPAR receptore

Peroxisom proliferator-aktivirani receptori su ligandom aktivirani receptori iz skupine nuklearnih receptora koji se dijele na podtipove PPAR α , PPAR γ i PPAR β/δ (Dufour i sur., 2022). Ranije je iz skupine PPAR agonista spomenut pioglitazon, a s obzirom na njegovu učinkovitost u dijabetesu i NAFLD-u, intenzivno se traži novi analozi pioglitazona (Prihodko i sur., 2022).

Agonisti PPAR receptora djeluju kao transkripcijski faktori nakon vezanja liganda, djelujući na upalni odgovor, staničnu proliferaciju i diferencijaciju. Također, mogu djelovati i kao proupalni čimbenici potičući transkripciju NF- κ B (Prihodko i sur., 2022).

Određeni tipovi ovih receptora prisutni su u određenim tkivima:

- a. PPAR α , prisutan u jetri, adipocitima, skeletnim mišićima, srcu i bubrezima
- b. PPAR γ , prisutan u masnom tkivu, kolonu, makrofagima, pankreasu i skeletnim mišićima i dr.
- c. PPAR δ/β , prisutni u cijelom organizmu (Prihodko i sur., 2022).

U terapiji NASH-a najviše su se istaknuli lijekovi koji djeluju na PPAR α , čija je fiziološka uloga poticanje preuzimanja masnih kiselina od strane tkiva. Oni kontroliraju ChREBP i SREBP-1c i promoviraju FGF21 (eng. *fibroblast growth factor*) ekspresiju, što povećava inzulinsku osjetljivost i održava homeostazu glukoze. PPAR γ su pozitivni regulatori adipocitne diferencijacije i lipogeneze, povećavaju inzulinsku osjetljivost i preuzimanje glukoze u skeletne mišiće. Također, ovi receptori smanjuju upalu inhibirajući aktivaciju makrofaga te smanjenjem produkcije TNF α . PPAR δ je ostao najmanje istražen receptor upravo zbog svoje široke rasprostranjenosti u ljudskom organizmu. Za sada znamo da aktivacijom ovih receptora dolazi do smanjenja VLDL-a, inhibicije rasta adipocita, smanjenja generiranja ROS-ova te modulacije aktivacije Kupferovih stanica. Danas se zna da su ovi receptori smanjene ekspresije u teškoj jetrenoj steatozi, no za umjerenu steatozu podataka još nema (Prihodko i sur., 2022).

Lanifibranor, tzv. pan – PPAR agonist, kombinira učinke više selektivnih PPAR agonista. Aktivacija sve tri vrste receptora djeluje povoljno na terapijske ciljeve. Lijek nakon kliničkih ispitivanja pokazuje pozitivne napretke u smanjenju fibroze za barem jedan stadij s obzirom na kriterije za NASH. Podaci pokazuju da 42 % pacijenata pri korištenju doze od 1200 mg lanifibranora pokazuje napredak, a samo 24 % njih na placebo pokazuje napredak u smanjenju fibroze (Dufour i sur., 2022). Dolazi do smanjenja vrijednosti jetrenih enzima kod pacijenata s predcirotičnim stanjem. (Prihodko i sur., 2022). Pacijenti povezuju povećanje tjelesne težine s uporabom lanifibranora, što se još treba istražiti. Trenutno ga je FDA proglasio *breakthrough* terapijom, a trenutno se nalazi u fazi III kliničkih ispitivanja (Dufour i sur., 2022).

MSDC-0602K je druga generacija tiazolidindiona kojoj je smanjen afinitet za PPAR γ , a dominantno se veže na mitohondrijski piruvatni transporter. Istražuje se u dozama 250, 125 i 62,5 mg. Dovodi do smanjenja glikiranog hemoglobina. Ne utječe na jetrenu histologiju koliko

se očekivalo, ali kao pozitivne strane autori navode da ne dovodi do hipoglikemije, edema i lomova kostiju (Cho i Lee, 2022).

Saroglitazar (Lipaglyn®) je dualni PPAR α/γ agonist, u Indiji odobren za T2DM i precirotični NASH (Prihodko i sur., 2022), ali i dislipidemiju, pretilost i metabolički sindrom (Xian i sur., 2022). U nekoliko randomiziranih kliničkih studija kod pacijenata s NAFLD-om s i bez ŠBT2, u dozi od 4 mg dnevno, ovaj je lijek pokazao značajno smanjenje ALT-a, kao i poboljšanje hepatičke steatoze u usporedbi s nefarmakološkim mjerama kroz 16 – 24 tjedna primjene (Prihodko i sur., 2022). Ne pokazuje tipične nuspojave pioglitazona, dobro je toleriran, a od nuspojava najčešće se javljaju gastrointestinalne kao što su napuhanost i dispepsija i to u dozi od 4 mg dnevno (De i Duseja, 2021).

PPAR α/δ agonist elafibranor je kroz 52 tjedna u dozama od 120 mg i 80 mg uspoređivan s placeboom kod odraslih pacijenata koji boluju od NASH-a. U samo 19% pacijenata je došlo do poboljšanja, smanjenja LDL-a i TAG (Attia i sur., 2021), a na fibrozu ne utječe (Kanižaj Filipec i sur., 2020).

Posljednje eksperimentalne studije pokazuju da smanjena PPAR α ekspresija korelira s inzulinskom rezistencijom i ozbiljnošću NASH-a, a pojačana aktivacija PPAR-a se povezuje s rješavanjem NASH-a. Iz tih razloga, ovi su lijekovi i dalje predmet brojnih kliničkih studija (Prihodko i sur., 2022).

4.3.2. Lijekovi koji ciljaju receptore za tiroidni hormon tipa β

Receptori za tiroidni hormon tipa β (THR- β) su važan dio jetrene homeostaze, ali i homeostaze većine organskih sustava zbog metaboličkog učinka tireoidnih hormona. Oni su nuklearni receptori i transkripcijski faktori. Mogu stvarati heterodimere s jetrenim X receptorom ili PPAR receptorima. THR- β agonisti povećavaju metabolizam lipida i promoviraju mitohondrijsko stanično disanje, što dovodi do veće proizvodnje ATP-a i većeg iskorištenja energije. Agonistički djeluju i na transkripcijsku aktivnost koja promovira sintezu žučne kiseline, bilijarno izlučivanje lipida, a smanjuju proaterogene koncentracije lipida. Potiču normalnu jetrenu proliferaciju čime reguliraju nuklearne signalne putove i inhibiraju tumorski rast, što onemogućuje formiranje metastaza u hepatocelularnom karcinomu (Dufour i sur., 2022).

Resmetirom je glavni predstavnik ove skupine lijekova te je prošao kroz fazu III kliničkih ispitivanja u dozi od 80 mg i 100 mg. Dosadašnja ispitivanja pokazuju pozitivne rezultate po pitanju smanjenja jetrene masnoće, jetrene fibroze, LDL-a i apoB. Dovodi do smanjenja ALT-

a i GGT-a. Resmetirom se pokazao kao siguran lijek, dobre tolerancije, koji smanjuje N-terminalni tip III kolagen pro-peptida (Pro-C3), koji se danas sve više uzima u obzir kao prognostički parametar razvoja NASH-a (Dufour i sur., 2022). Novija istraživanja pokazuju da dolazi i do smanjenja TAG. Od nuspojava, najčešće navođene su mučnina i dijareja (Cho i Lee, 2022). U razvoju su i lijekovi VK2809, TERN501, MGL-3196 i MGL-3745. VK-2809 je u fazi IIA. Na uzorku od 45 pacijenata, u dozama 5 mg ili 10 mg, kroz 12 tjedana, došlo je do smanjenja jetrene masnoće 56,5 % uz terapiju 10 mg svaki drugi dan i 53,8 % uz 5 mg svaki dan, odnosno 59,7 % ako je pacijent koristio svaki dan 10 mg, a kod placeba za samo 9,4 %. Nije došlo do značajnih promjena ALT-a (Attia i sur., 2021).

Primjenom MGL-3196 riješio se NASH u 27% pacijenata, a zanimljivo je da baš ti pacijenti nisu imali promjene u BMI-ju. Došlo je do smanjenja LDL-a i apoB. Kao glavna nuspojava se uočava minimalna pojava dijareje (Attia i sur., 2021). Ipak, treba imati u vidu da su se neki lijekovi kao eprotirom i sobetirom već izbacili iz kliničke prakse zbog zabrinjavajućih nuspojava (Ester i Bence, 2019).

Iako se čini kako ovi lijekovi imaju veliki potencijal jer tiroidni hormoni reguliraju unos hrane, lipidni metabolizam, metabolizam glukoze i β -oksidaciju, oni se ne mogu uzimati dugotrajno sistemski zbog THR agonizma na α tipu receptora što bi dovelo do utjecaja na kosti i srce (Attia i sur., 2021).

4.3.3. Inhibitori ACC

Acetil-CoA karboksilaza (ACC) prevodi acetil-CoA u malonil-CoA koji inhibira karnoitin-palmitil transferazu 1 pa ne može doći do transporta dugolančanih masnih kiselina vezanih na acil-CoA u mitohondrijima. Posljedica je izostanak β -oksidacije. Postoje tri izoforme ACC-a, a nalaze se u jetri, mišićima i srcu (Esler i Bence, 2019).

ACC inhibitori pojačavaju β -oksidaciju, smanjuju hepatsku steatozu, ali povećavaju TAG i VLDL u cirkulaciji (Esler i Bence, 2019). GS-0976 je ACC1 i ACC2 inhibitor u fazi II. Davanjem doze od 20 mg ili 5 mg jedan puta dnevno kroz 12 tjedana smanjio se PDFF, a razine triglicerida su vraćene u granice referentnih vrijednosti. Od nuspojava su zabilježene mučnina, abdominalna bol, dijareja i glavobolja (Attia i sur., 2021). Firsokostat i clesakostat selektivni su ACC inhibitori koji se razvijaju za kombiniranu terapiju NASH-a. Kako je ACC indirektno inhibiran farnezoidnim receptorom, koristi se u kombinaciji s agonistima farnezoidnih receptora, npr. cilofeksorom kako bi se postigli terapijski ishodi uz niže doze, a samim time i manje nuspojava. U fazi II kliničkih ispitivanja 20 mg firsokostata dnevno i 30 mg cilofeksora

pokazali su značajne napretke u smanjenju jetrene steatoze, lobularne upale i hepatocelularnom *ballooninga* te poboljšanje biokemijskih parametara unutar 48 tjedana (Prihodko i sur., 2022). Firsokostat je pokazao problem pojave asimptomatske hipertrigliceridemije, što se pokazalo kao jedan od fokusa daljnjih istraživanja (Cho i Lee, 2022). Clesakostat u dozi od 2-50 mg reducira steatozu i kombinira se s DGAT2 inhibitorom ervogastatom u cilju smanjenja koncentracije triglicerida (Prihodko i sur., 2022).

Ipak, inhibicija sinteze triglicerida može dovesti do upale u jetri i fibroze, smanjiti barijernu funkciju GIT-a te dovesti do steatoreje i dijareje, što je po nekim autorima, razlog za odustajanje od istraživanja u smjeru ACC inhibitora (Prihodko i sur., 2022).

4.3.4. SCD-1 inhibitori

Stearoil -CoA desaturaza 1 (SCD-1) je enzim koji u endoplazmatskom retikulumu potiče sintezu nezasićenih masnih kiselina. Aramchol je sintetski konjugat arahidonske kiseline i kolnih kiselina i prvi po redu inhibitor SCD-1. Ovaj lijek, osim što inhibira *de novo* lipogenezu i HSC stanicama moduliranu fibrinogenezu, također i smanjuje koncentracije kolesterola te potiče otapanje žučnih kamenaca stimulacijom makrofaga koji dovode do efluksa kolesterola. Doza koja je praćena je 600 mg, a pratio se efekt kroz 72 tjedna ili 120 tjedana. Aramchol je smanjio ALT, AST i glikirani Hb (Prihodko i sur., 2022). Od nuspojava može doći do infekcija urinarnog trakta, glavobolje, svrbeža i mučnine (Cho i Lee, 2022).

4.3.5. DGAT inhibitori

Digliceril acetiltransferaza (DGAT) katalizira esterifikaciju masnih kiselina iz DAG (diacilgliceroli) u TAG. Aktivnost ovog enzima doprinosi apsorpciji masti, kontroli cirkulirajućih lipida te izlaska lipoproteina između adipocita i jetre i metabolizmu mišića. Postoje dva osnovna podtipa – DGAT1 koja je više zastupljena u crijevu i zadužena za apsorpciju masti, a DGAT2 je zastupljena u jetri i masnom tkivu. U hepatocitima, DGAT1 primarno esterificira egzogene masne kiseline dok DGAT2 primarno *de novo* lipogenezom sintetizirane masne kiseline pretvara u trigliceride (Esler i Bence, 2019).

Inhibitori DGAT1 i DGAT2 se istražuju, no za potrebe ovog diplomskog rada fokus je stavljen na inhibitore DGAT2 s obzirom na njihovu fiziološku lokaciju u organizmu koja je bitna za liječenje NASH-a (Esler i Bence, 2019).

Oralni DGAT2 inhibitor PF-06427878 je kroz dva tjedna primjene smanjio steatozu u 67 NAFLD dobrovoljaca te je također došlo do pada vrijednosti jetrenih enzima (Esler i Bence,

2019). Ervogastat je selektivni DGAT2 inhibitor koji značajno smanjuje količinu masnih naslaga u jetri kod pacijenata sa srednjim stadijem NAFLD-a. Ispituje se samostalno i u kombinaciji s clesakostatom u pacijenata s NASH-om bez i s fibrozom (Prihodko i sur., 2022).

4.3.6. Inhibitori mitohondrijskog piruvatnog nosača

Noovotkriveni mehanizam tiazolidindiona je njihova interakcija s mitohondrijskim piruvatnim nosačem, gdje glitazoni onemogućuju transport piruvata u matriks mitohondrija. Ovaj negenomski učinak je bitan učinak PPAR γ liganda za inhibiciju lipogeneze, pa sve više istraživača ide u smjeru sinteze tiazolidindiona koji će imati manji afinitet za PPAR (Prihodko i sur., 2022).

Azemaglitazon smanjuje razine jetrenih enzima kod pacijenata s NASH-om i jetrenom fibrozom neovisno o T2DM. Za sada pokazuje vrlo dobar sigurnosni profil, no kao manjak autori navode činjenicu da se ne vide histološke promjene na jetri (Prihodko i sur., 2022).

4.3.7. GIP/GLP-1 agonisti

GIP i GLP-1 su potentni sekretagozi inzulina, uz razliku da je GIP više ovisan od dozi. GIP više pridonosi sekreciji prandijalnog inzulina nego GLP-1 u zdravih pacijenata, dok kod pacijenata s T2DM njegova aktivnost je gotovo zanemariva. GIP, za razliku od GLP-1 djeluje i na α -stanice gušterače u stanjima hipoglikemije povećavajući razine glukagona. Agonističko djelovanje na GIP receptore potiče lipogenezu, esterifikaciju masnih kiselina i nakupljanje TAG u adipocitima, ali također inhibira prandijalnu apsorpciju lipida. Suprafiziološke razine GIP-a dovode su do povećane upale u organizmu, što je rizični faktor za razvoj NASH-a (Prihodko i sur., 2022).

Tirzepatid je sintetski peptid, i.v. dualni GLP-1/GIP agonist koji je sintetiziran u svrhu liječenja NAFLD-a. Kod pacijenata koji u dijagnozi imaju NASH i ŠBT2, koji su koristili lijek u dozi od 1-15 mg kroz 26 tjedana, tirzepatid je smanjio razine ALT-a i AST-a, a povećao razine adiponektina. Trenutno je u fazi II ispitivanje tirzepatida na pacijentima s NASH-om koji ne boluju od ŠBT2 (Prihodko i sur., 2022).

Novija istraživanja pokazuju da su dualni inkretinski mimetici više efikasni nego GLP-1 agonisti. GIP i GLP-1 agonist LY3298176 smanjuje HbA1c i pokazuje veće smanjenje BMI-ja od dulaglutida (Esler i Bence, 2019).

4.3.8. Agonisti farnezoidnih receptora

Farnezoidni X receptor (FXR) je ligandom aktiviran transkripcijski faktor uključen u kontrolu sinteze žučnih kiselina, a također sudjeluje u brojnim staničnim putevima u jetri i ileumu, uključujući upalu, fibrozu, metabolizam lipida, triglicerida, kolesterola i glukoze (Dufour i sur., 2022).

Nakon postprandijalnog porasta koncentracije žučnih kiselina u crijevu, aktivirani receptor inducira transkripcijsku represiju kolesterol-7- α -monooksigenaze i drugih transportera uključenih u biosintezu žučnih kiselina. Inhibicijom je uzrokovano povećanje koncentracije kolesterola u žuči i u lumenu crijeva. FXR također regulira i izlazak žučnih soli iz hepatocita i održava enterohepatičku cirkulaciju žuči te potiče konjugaciju žučnih kiselina (Dufour i sur., 2022). Farnezoidni receptor je heterodimer s receptorom za retinoičnu kiselinu, a ekspresimiran je u ileumu, Kupfferovim stanicama te HSC stanicama (Esler i Bence, 2019). FXR regulira smanjuje aktivnost SREBP-1c, glavnog represivnog lipogeničnog faktora, posljedično inhibirajući FAS (eng. *Fatty Acid Synthase*), ACC, i SCD-1. Postprandijalni porast glukoze može pojačati FXR aktivnost potičući različite posttranslacijske modifikacije koje uzrokuju odlaganje glikogena i smanjujući razine glukoze u krvi (Dufour i sur., 2022). Farnezoidni receptori smanjuju glikogenolizu i glukoneogenezu. Periferno moduliraju IR i osjetljivost mišića i masnog tkiva na glukozu. Također, utječu na *de novo* lipogenezu i oksidaciju masnih kiselina. Potiču protuupalne procese (Attia i sur., 2021).

Obetkolična kiselina je FXR agonist, za sada odobrena od strane FDA-a za necirotični primarni bilijarni kolangitis, a uz sve više studija za NASH. U fazi II je pokazano da poboljšava inzulinsku osjetljivost i smanjuje jetrene probe u pacijenata s T2DM i NAFLD-om. Prevenirira i dovodi do reverzibilnog popravljivanja fibroze u nedijabetičnih, predcirotičnih NASH pacijenata. (Dufour i sur., 2022). U fazi III kliničkih ispitivanja sudjelovalo je 1968 ispitanika stupnja fibroze F2 i F3. Kroz 18 mjeseci, lijek je pokazao poboljšanje barem jednog stupnja fibroze, ali nije došlo do izliječenja NASH-a. Od glavnih nuspojava su zabilježene svrbež i povećanje LDL-a, (Prihodko i sur., 2022) zbog čega ju neki kliničari kombiniraju sa statinima. Predložena je doza 10 mg atorvastatina (Attia i sur., 2021). Potreban je oprez jer je u 3% pacijenata koji su koristili dozu od 25 mg došlo do nastanka žučnih kamenaca i kolecistitisa (Cho i Lee, 2022). Neka istraživanja pokazuju da je kroz 72 tjedna u dozi od 25 mg dnevno smanjila steatohepatozu i fibrozu u pacijenata bez ciroze (Kanižaj Filipec i sur., 2020), dok drugi istraživači ukazuju na činjenicu da povećava alkalnu fosfatazu i HbA1c (Xian i sur., 2022).

Obetikolična kiselina, baš kao i njeni taurinski i glicinski konjugati, se aktivno veže za TGR5 (eng. *Takeda G-Protein Receptor 5*), po vrsti GPCR receptor (eng. *G-protein coupled receptor*) (Dufour i sur., 2022). Žučne kiseline aktiviraju TGR5 koji pojačava djelovanje GLP-1 što smanjuje IR i poboljšava funkciju jetre (Gupta i sur., 2022). Ovaj je receptor također vezan za svrbež uzrokovan žučnim solima i formiranje žučnog kamenca. Pokušalo se razvijati novije, selektivnije molekule koje će biti pokazane u nastavku, no one su pokazale slabiji učinak, a svrbež je ostao neizbježna nuspojava (Dufour i sur., 2022).

Osim svrbeža, cilj novijih lijekova je bio utjecati i na potencijalne *off target* mete, odnosno povećati selektivnost ovih molekula, no one su pokazale još jedan dodatan negativni ishod – povećan kardiovaskularni rizik. Provedena istraživanja pokazala su da je svrbež nastao zbog FXR agonizma, a ne *off target* meta. Primjerice, GS9674 u fazi II doveo je do smanjenja jetrene masnoće u gotovo četvrtine pacijenata koji su primjenjivali dozu od 100 mg, a 3,7% kod doze od 30 mg. Vidljivo je povećanje kolesterola i LDL-a, a svrbež je bio jači što je veća doza. Danas se taj lijek istražuje u kombinaciji s selonsertibom, firsokostatom, cilofeksorom, ali i samostalno (Ester i Bence, 2019).

Tropifeksor, cilofeksor i vonafeksor su nesteroidni FXR agonisti. Tropifeksor je u dozi od 200 mg dnevno smanjio razine ALT-a, GGT-a, BMI te jetrenu masnoću i jetrenu fibrozu u pacijenata s biopsijom potvrđenim NASH-om. Cilofeksor u dozi od 100 mg dnevno je smanjio jetrenu masnoću, GGT, serumske razine žučnih kiselina tijekom 24 tjedna, ali nije utjecao na jetrenu tvrdoću. U tijeku su ispitivanja kombinacija s firsokostatom i semaglutidom za kompenziranu cirozu zbog NASH-a. Vonafeksor je druga generacija visoko selektivnih nesteroidnih FXR agonista, a posljednje studije pokazuju da poboljšava jetrenu steatozu, eGFR i upalu kod pacijenata s NASH-om s normalnim ili blago reduciranim eGFR-om (Dufour i sur., 2022).

4.3.9. ω -3 polinezasićene masne kiseline

ω -3 polinezasićene masne kiseline su dugolančane masne kiseline, od kojih su bioloških najznačajnije α -linolenska (ALA) i njeni metaboliti eikozapentaenska kiselina (EPA) i dokozaheksaenska kiselina (DHA) (Dufour i sur., 2022).

ω -3 kiseline dovode do smanjene transkripcije glavnih enzima hepatičke glikolize i *de novo* lipogeneze, ranije navedenih ACC, FAS te L-piruvat kinaze. Povećan unos ω – 3 dovodi i do njihove veće ugradnje u membrane fosfolipida, pa samim time i dominiranja u omjeru s ω – 6- masnim kiselinama. Manja koncentracija ω – 6- masne kiseline, arahidonske kiseline, dovodi

do manje produkcije eikozanoida od strane leukocita. Paralelno, EPA i DHA smanjuju kemotaksiju leukocita i ekspresiju adhezijskih molekula što dovodi do protuupalnog odgovora. ω -3 kiseline se dugo godina koriste zbog svog protuupalnog, regenerativnog i antitumorskog djelovanja (Dufour i sur., 2022).

Šestotjedna primjena ω -3 masnih kiselina (64% ALA + 21% EPA + 16% DHA) dovela je do značajnog poboljšanja jetrenih enzima, lipidnih markera u plazmi, smanjenja lipogeneze i lipotoksičnosti te redukcije oksidativnog stresa u pacijenata s biopsijom potvrđenim NASH-om. Ipak, za sada nije pokazan značajan pomak u primjeni ovih kiselina na smanjenje tjelesne težine ili histološke parametre NASH-a. Noviji podaci triju meta analiza pokazali su da ovakva suplementacija smanjuje ALT, AST i GGT razine te inzulinsku rezistenciju (Dufour i sur., 2022).

Epeleuton (etilni ester 15-hidroksieikozapentaenske kiseline) je druga generacija sintetskih derivata EPA-e. Tijekom 16 tjedana faze IIa randomiziranih kliničkih ispitivanja, pokazano je da epeleuton u dozi 2 g dnevno dovodi do smanjenja upalnih faktora, poboljšava lipidni profil i inzulinsku rezistenciju, ali ne dovodi do smanjenja jetrene čvrstoće i ALT-a (Dufour i sur., 2022).

Ikosabutat je sintetski ω -3 PUFA eter dizajniran tako da se više apsorbira u jetru direktnom apsorpcijom u venu portu. Trenutno se optimira doza koja bi smanjila ALT, AST, GGT i alkalnu fosfatazu (ALP), a kod pacijenata su uočeni smanjenje fibroze i upalnih čimbenika u dozi od 600 mg dnevno (Dufour i sur., 2022).

4.3.10. Pirfenidon

Pirfenidon je derivat piridina s antifibrotičnim, protuupalnim i antioksidativnim svojstvima, ali još nejasnog mehanizma djelovanja. Pretpostavlja se da smanjuje koncentraciju fibronektina, TGF- β (eng. *Transforming Growth Factor B*), produkciju kolagena, fibrozu, nekrozu hepatocita i upalu. U fazi II kliničkih studija pokazano je da pirfenidon u dozi od 1200 mg dnevno smanjuje razine transaminaza i progresivnu jetrenu fibrozu u nealkoholnim oblicima masne jetre (Dufour i sur., 2022).

4.3.11. Ostali lijekovi

Drugi lijekovi koji se danas istražuju su antileukotrienski agensi, GPCR modulatori, anti-IL monoklonska protutijela, agonisti purinskih receptora, antioksidansi, *antisense* oligonukleotidi, *multitarget* epigenetski regulatori, FGF analozi, genska terapija i dr. (Dufour i sur., 2022).

4.4. Drugi terapijski pristupi

4.4.1. Barijatrijska kirurgija

Smanjenje tjelesne mase vrlo je zahtjevan terapijski cilj, dok je održavanje iste u većine pacijenata gotovo nemoguć. Stoga, jedna od opcija je primjena kirurških metoda liječenja. Barijatrijska kirurgija koristi se kod pacijenata koji su pretili i boluju od NAFLD-a. Pokazano je da nakon zahvata dolazi do smanjenja kardiovaskularnog rizika i tumorskih komorbiditeta, što smanjuje smrtnost pacijenata. Smanjuje se steatoza, *ballooning* hepatocita, upala i fibroza kod pacijenata s NASH-om. Još uvijek nije poznato kolika je sigurnost zahvata, a po dosadašnjim iskustvima smrtnost je veća kod pacijenata s cirozom (Virović Jukić i sur., 2021).

Barijatrijska kirurgija može se obavljati kao restriktivna, malapsorpcijska ili kombinacija obje. Restriktivna smanjuje volumen želuca vertikalnom gastroplastikom ili podvezivanjem želuca podesivom želučanom vrpcom. Malapsorpcijska zaobilazi različite dijelove tankog crijeva gdje se odvija apsorpcija hranjivih tvari (Mikolašević i sur., 2016).

Zahvat smanjuje tjelesnu težinu pacijenata od 14-25% kroz 10 godina, poboljšava kontrolu ŠBT2 te rješava NAFLD u 85 % - 90 % slučajeva (Xian i sur., 2022). Smanjuje steatohepatozu u 82% ljudi, fibrozu u 60 %, a kompletno riješi NASH u 70% ljudi (Esler i Bence, 2019). Uspješan gubitak tjelesne težine nakon barijatrijske kirurgije dovodi do pada koncentracije IL-1 u subkutanom masnom tkivu, a kako nema IL-1, ne dolazi do prijelaza steatoze u steatohepatitis i jetrenu fibrozu (Dufour i sur., 2022).

4.4.2. Transplantacija jetre

Neliječeni NAFLD, kako je ranije rečeno, napreduje u cirozu, a kasnije u hepatocelularni karcinom, što je najbrže rastuća indikacija za transplantaciju jetre. Ipak, čak i ako dođe do odluke da se zahvat provede, bolesnici ovog stupnja NAFLD-a često imaju druge komorbiditete, tako da je sam zahvat rizičan, kao i imunosupresivna terapija nakon njega. Često i nakon zahvata pacijenti ponovno razviju simptome NAFLD-a, no rijetko dolazi do progresije u zadnji stupanj bolesti (Virović Jukić i sur., 2021).

4.4.3. Fekalna transplantacija mikrobiote

Danas se sve više govori o povezanosti imunološkog odgovora i zdrave mikrobiote. Do sada provedena istraživanja pokazuju da osam vrsta crijevne mikrobiote su prisutne u dvostruko manjoj koncentraciji u naprednoj fibrozi, nego kod skupine zdravih dobrovoljaca. Također, 22

vrste je dvostruko manje u umjerenj fibrozi nego kod pacijenata s normalnom mikroflorom (Dufour i sur., 2022). Poznato je da kod pacijenata s dekompenziranom cirozom probiotici olakšavaju simptome napuhnutosti, upalu, ALT, fibrozu te razine citokina i endotoksina (De i Duseja, 2021). Do sada provedene fekalne transplantacije iz zdravog, alogenog donora dovele su do smanjenja GGT-a i nekroze hepatocita, no to je područje koje još valja detaljno istražiti (Gupta i sur., 2022).

4.5. Uloga ljekarnika

Farmaceut je pacijentu najdostupniji zdravstveni djelatnik. Ova se činjenica u budućnosti treba iskoristiti u svrhu postizanja odgovarajućeg probira, savjetovanja i usmjeravanja pacijenata za koje se sumnja da boluju od nealkoholne masne jetre.

4.5.1. Probir pacijenata

Ljekarnik kao aktivni član zdravstvenog tima trebao bi prepoznati sljedeće rizične čimbenike za NAFLD:

1. ŠBT2
2. arterijsku hipertenziju
3. dislipidemiju
4. apneju u snu,
5. policistične jajnike,
6. hipotireozu (Griffin i Bahirwani, 2022)
7. povećan opseg struka
8. IR-u (Virović Jukić i sur., 2021).

Dodatni rizični čimbenici su dob veća od 50 godina i povećan ALT (Kanižaj Filipec i sur., 2020).

Danas se još uvijek ne preporučuje rutinski pregled visokorizičnih grupa. Ključna uloga farmaceuta je savjetodavna tako što će uputiti pacijenta liječniku jer su ljekarnici najčešće najbolje upoznati s trenutnim bolesnikovim stanjem (Griffin i Bahirwani, 2022).

4.5.2. Dodaci prehrani

4.5.2.1. Silimarin

Silimarin je antioksidativni ekstrakt sikačice, *Silybum marianum* (L.) Gaertner, vrlo dugo korišteni lijek za obnovu jetrenih stanica. Koristi se u dozama 420 mg ili 700 mg tri puta dnevno, ali i dalje bez točno određenog režima doziranja iako je dugo u uporabi (Attia i sur., 2021).

Različita istraživanja govore u prilog različitim učincima - hepatoprotektivno, protuupalno, antiproliferativno te imunomodulatorno. Silimarin neutralizira slobodne radikale, povećava ekspresiju glutationa te glutation peroksidaze i superoksid dismutaze. Nadalje, smanjuje razine IL-8, IL-6 i TNF α te dovodi do inhibicije NF- κ B. Onemogućuje aktivaciju prokaspaze-3 u kaspazu-3. Inhibira JNK (eng. *c-Jun N-terminal kinase*) i MEK (eng. *Mitogen-Activated Protein Kinase*) ovisan o TNF-u, pa se inhibira o TNF-u ovisna apoptoza, a učinak je ovisan o dozi. Smanjuje trigliceride i ukupni kolesterol (Salvoza i sur., 2022).

Iako su podacima dobiveni pokusima na životinjama obećavajući, doze su obično teško ponovljive u terapiji kod ljudi. Niska bioraspoloživost pokušala se povećati formulacijama s ciklodekstrinima, fosfatidilkolinom i vitaminom E te su dodavane različite biljke kako bi povećale apsorpciju u probavnom sustavu. (Salvoza i sur., 2022). Pacijenti koji su koristili navedene formulacije kroz razdoblje 48 do 54 tjedna, pokazalo se da kod njih silimarin nije bio djelotvorniji nego placebo (Attia i sur., 2021). Također, istraživanja su nedosljedna po pitanju dobrobiti za djecu s NAFLD-om (Salvoza i sur., 2022).

Danas se sintetiziraju nove tvari jačeg djelovanja, molekule koje bi neutralizirale ROS-ove i inhibitori lipidne peroksidacije, npr. 3-O-palmitil silibin (Salvoza i sur., 2022).

4.5.2.2. Kava

Zadnjih 30-ak godina zna se za hepatoprotektivni učinak kave, odnosno njenih sastojaka, kofeina i kavene kiseline. Njihov učinak je antioksidativni, protuupalni te antifibrotični. Smanjuju IR i ozbiljnost dijabetesa. Studije pokazuju da je za 23 % smanjen rizik od NAFLD-a kod osoba koje redovito ispijaju kavu, a oni koji imaju NAFLD, na njih utječe tako da za 32% smanjuje rizik od razvoja fibroze (Salvoza i sur., 2022).

Kofein promovira oksidaciju masnih kiselina i smanjuje *de novo* sintezu masnih kiselina (Salvoza i sur., 2022). Kavena kiselina prisutna je u grožđu, maslinama, špinatu, šparogama i

kadulji, a često se spominje i u tradicionalnim kineskim pripravcima. Popravlja DNA oštećenja, ima protutumorsku aktivnost, inhibira lipidnu peroksidaciju i smanjuje razinu glukoze u krvi. Kavena kiselina smanjuje razine lipopolisaharida (LPS), TNF α , IL-6, ekspresiju TLR4 (eng. *Toll-Like Receptor Type 4*) i aktivaciju NF- κ B. Smanjuje nakupljanje lipida i oksidativni stres pa onemogućuje nastajanje ateroskelorskih plakova (Salvoza i sur., 2022).

Bitna je vrsta kave koja se konzumira, u kojoj mjeri i koliko često, sastav bilja te mjesto uzgoja. Za sada su studije dosta štire, nejasne i ne može se sa sigurnošću tvrditi kakav oblik kave je najbolji po pitanju terapijskog učinka (Salvoza i sur., 2022). Preporuka je konzumacija tri do četiri šalice kave dnevno za postizanje željenog učinka (Bischoff i sur., 2020).

4.5.2.3. Zeleni čaj

Zeleni čaj se dobiva od biljke *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, koja je bogata polifenolnim katehinima, kao što su epikatehin, epigalaktokatehin i epigalaktokatehingalat. Oni utječu na nakupljanje lipida, smanjuju upalu i oksidativni stres. U probavnom sustavu smanjuju apsorpciju lipida i glukoze. Smanjuju IR i lipogenezu, poboljšavaju iskorištavanje energije, smanjuju stvaranje ROS-ova i lipidnu peroksidaciju. Povećavaju koncentraciju antioksidativnih enzima i smanjuju NF- κ B i TLR4. Zadnje studije koje su proveli kineski znanstvenici pokazuju da 600 mg katehina iz zelenog čaja djeluje na redukciju BMI-ja, AST-a, ALT-a, razine glukoze u krvi i ima pozitivan učinak na lipidogram (Dekant i sur., 2017).

4.5.2.4. Vitamin D

Vitamin D spada u skupinu vitamina topljivih u mastima, a ranije je bio korišten samo u svrhu zdravlja koštanog sustava. Danas se znaju njegove raznolike funkcije pa se koristi i kao lijek i kao dodatak prehrani u brojne svrhe. Njegovi učinci se mogu podijeliti u antifibrotične, protuupalne i imunomodulatorne (Mikolašević i sur., 2016).

Glavni izvor vitamina D je aktivacija 7 - dehidrokolesterola u koži djelovanjem ultraljubičastog zračenja, koji se u jetri pretvara u 25 - hidroksi - vitamin D. Ovaj oblik vitamina D predstavlja glavni oblik vitamina D u cirkulaciji. U bubrezima dolazi do pretvorbe u aktivni oblik vitamina D, 1,25 - dihidroksi vitamin D ili kolekalciferol (Mikolašević i sur., 2016).

Vežanje 1, 25 - dihidroksi vitamina D, odnosno kalcitriola, za vitamin D-receptore dovodi do ekspresije gena koji dovode do proliferacije, diferencijacije, apoptoze, usmjeravanja imunskog odgovora te angiogeneze. Ti se receptori nalaze na miocitima, neuronima, stanicama kože, hepatocitima, imunološkim i endokrinološkim stanicama te stanicama

urinarnog trakta i genitalija. Nedostatak vitamina D povezan je s multiplom sklerozom, hipertenzijom, pretilošću te inzulinskom rezistencijom (Mikolašević i sur., 2016).

Do sada provedena istraživanja pokazuju da vitamin D smanjuje fibrozu jetre. Trenutno se provode studije koje razmatraju može li svakodnevna suplementacija vitaminom D liječiti ili barem usporiti progresiju ove bolesti i u kojoj dozi ga je potrebno koristiti (Mikolašević i sur., 2016). Danas se smatra i da vitamin D ima ulogu reguliranja funkcija ranije opisanih miRNA bitnih za patofiziologiju NAFLD-a (Zhang i sur., 2021).

4.5.2.5. Vitamin E

Vitamin E, α -tokoferol, zbog svog antioksidativnog djelovanja se koristi za terapiju NASH-a. Njegov je učinak pokazan laboratorijskim praćenjem aminotransferaza i histološkim nalazom pacijenata s NAFLD-om. Također, pokazano je velikim randomiziranim kliničkim studijama da korištenje vitamina E u dozi od 800 IJ dnevno podijeljeno u dvije doze tijekom 96 tjedana dovodi do sniženja vrijednosti aminotransferaza, smanjuje stupanj steatoze jetre te djeluje protuupalno. Djelovanje vitamina E na daljnji napredak NASH-a u cirozu jetre još nije poznato (Mikolašević i sur., 2016).

Dugoročna primjena vitamina E povezana je s većim rizikom od krvarenja (Xian i sur., 2022), osteoporoze kod žena i karcinoma mokraćnog mjehura (De i Duseja, 2021). Postoji opasnost i za pacijente s visokim kardiovaskularnim rizikom i rizikom od krvarenja ako je terapija dugotrajna (Powel i sur., 2021).

Za vitamin E je preporučan prestanak korištenja ako nakon šest mjeseci adherentne primjene nema povratka ALT-a unutar graničnih vrijednosti. Za pacijente koji imaju vrijednost ALT-a koji je u granicama referentnog intervala, smjernice za sada nisu jasne (Virović Jukić i sur., 2021).

4.5.2.6. Flavonoidi

Flavonoidi su agonisti PPAR γ i PPAR α , smanjuju TNF α i IL-6, a povisuju razine adiponektina. Djeluju na oksidaciju masnih kiselina te inhibiraju upalu djelujući na supresiju NF- κ B i C-reaktivnog proteina (Zhong i sur., 2021).

U velikoj studiji koja je rađena na kineskoj populaciji srednjih godina pokazana je izravna povezanost između unosa flavonoida i usporenog razvoja NAFLD-a kod populacije srednjih godina, BMI-ja većeg od 24. Studije ukazuju na to da flavonoidi u prehrani smanjuju rizik

razvoja NAFLD-a smanjenjem IR-a i serumskog kolesterola. U randomiziranoj kliničkoj studiji koja je provedena na 72 pacijenata s NAFLD-om koji su 12 tjedana bili suplementirani s 320 mg antocijana, došlo je do redukcije ALT-a i mijeloperoksidaze. Ipak, treba uzeti u obzir da postoje i studije s oprečnim rezultatima pa su mišljenja i dalje podijeljena (Zhong i sur., 2021).

4.5.2.7. Probiotici

Dvije do sada provedene meta analize potvrdile su da probiotici mogu poboljšati inzulinsku rezistenciju te smanjiti dislipidemiju, sistemsku upalu, ali i poboljšati funkciju jetre (Gupta i sur., 2022). Probiotici i sinbiotici smanjuju aminotransferaze (Attia i sur., 2021), ALT, AST, GGT, CRP (Bischoff i sur., 2020). Još nema dokaza da poboljšavaju histološku funkciju jetre (Attia i sur., 2021).

Sadašnja saznanja preporučuju probiotike s vrstama *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactococcus spp.*, *Propionibacterium spp.* i *Acetobacter spp.* u svrhu liječenja NAFLD-a i NASH-a. *Lactobacillus* smanjuje produkciju ROS-ova. *Bacteroides* i *Clostridium bartletti* smanjuju produkciju prouupalnih citokina i masnih kiselina te utišavaju makrofage tako što proizvode indol-3-acetat i indol-3-propionat te triptamin koji smanjuju stvaranje FAS i SREBP-1c, što smanjuje nakupljanje lipida u hepatocitima. Metabolit *Peptostreptococcus* je indolakrilična kiselina koja smanjuje upalu i stvara čvrste spojeve između stanica, tzv. *tight junctions* (Gupta i sur., 2022).

Disbioza pridonosi smanjenju koncentracije glutationa. Kako je prekursor za glutation glicin, daju se probiotici s glicinom koji smanjuju oksidativni stres (Gupta i sur., 2022).

4.5.2.8. Sinbiotici

Prva randomizirana, dvostruko-slijepa klinička studija na NAFLD pacijentima, pokazala je da suplementacija sinbioticima pomaže jetrenom tkivu kod pacijenata s NAFLD-om s normalnim i visokim BMI-jem (Mofidi i sur., 2017).

Danas znamo da patogeni mikroorganizmi, tj. njihovi LPS-ovi, mogu iz intestinalnog lumena ući u limfatičku cirkulaciju, što dovodi do lokalne i sistemske upale koja dovodi do stvaranja reaktivnih kisikovih radikala u jetri, što doprinosi razvoju NAFLD-a i NASH-a. U svrhu smanjenja koncentracije cirkulirajućeg LPS-a se koriste sinbiotici i probiotici (Mofidi i sur., 2017).

Sinbiotici dovode do smanjenja svih serumskih upalnih citokina osim TNF α . Smanjuju aktivnost JNK te TNF-regulirane stres kinaze koja potiče hepaticku IR, dok s druge strane aktivira NF- κ B. Kod pretilih pacijenata je uočeno poboljšanje glikemijskog statusa i lipidograma, a kod onih normalnog BMI-ja smanjila se koncentracija triglicerida (Mofidi i sur., 2017).

Sinbiotici utječu na gastrointestinalnu floru, smanjuju koncentracije endotoksina, povećavaju fekalni pH i smanjuju stvaranje i apsorpciju intestinalnih toksina. Također, sinbiotici, baš kao i probiotici, potiču proizvodnju kratkolančanih masnih kiselina, primjerice, butirata i propionata, koji u niskim koncentracijama dovode do smanjenja upale i oksidativnog stresa, ojačavaju funkciju enterocitne barijere i stimuliraju sitost te lipidnu peroksidaciju u hepatocitima. Acetat modulira IR, a kratkolančane masne kiseline su dobar izvor energije za domaćina te potiču apsorpciju nutrijenata. One koriste svoj GPCR tipa 41 i 43, time smanjuju gastrointestinalnu propusnost i ulazak bakterijskih produkata portalnom venom (Mofidi i sur., 2017).

5. ZAKLJUČAK

- Nealkoholna masna jetra veliki je javnozdravstveni problem i smatra se da će do 2030. postati glavni uzrok transplantacije jetre u svijetu.
- Stres, neodgovarajuća prehrana te nedovoljna fizička aktivnost dovode do razvoja NAFLD-a.
- Nefarmakološke mjere predstavljaju temelj liječenja. Preporučuje se mediteranska prehrana i redovita fizička aktivnost.
- Današnja terapija temelji se na „*off-label*“ primjeni lijekova, a u primjeni su najviše antidijabetici, od kojih najbolje rezultate za sada pokazuju GLP-1 agonisti i pioglitazon.
- Puno lijekova se ispituje u fazi II i III kliničkih ispitivanja, no glavni je problem što nije određen relevantan parametar za dokazivanje učinkovitosti lijekova. Lijek koji se čini da ima najviše potencijala za registraciju je obetikolična kiselina.
- Ljekarnik je važan sudionik u zdravstvenom sustavu čija je uloga pacijenta uputiti na promjenu životnih navika te savjetovati o dodacima prehrani.
- Daljnja istraživanja lijekova za ovu indikaciju su neophodna s obzirom na stalan porast oboljelih.

6. POPIS KRATICA

ACC – acetil-CoA karboksilaza (eng. *Acetyl-Coa Carboxylase*)

ALT – alanin aminotransferaza

AMPK – adenozinmonofosfat ovisna protein kinaza (eng. *AMP-activated protein kinase*)

AST – aspartat aminotransferaza

ATP – adenozin trifosfat

BMI – indeks tjelesne mase (eng. *Body Mass Index*)

CHREBP – protein koji veže elemente odgovora na ugljikohidrate (eng. *Carbohydrate Response Element Binding Protein*)

CK – kreatin kinaza

CK18-F - citokeratinski fragment 18

CoA – koenzim A

CRP – C-reaktivni protein

CT – kompjutozirana tomografija (eng. *Computed Tomography*)

DAG - diacilgliceroli

DBP - protein koji veže vitamin D (eng. *Vitamin D Binding Protein*)

DGAT – digliceril acetiltransferaza

DHA – dokozaheskaenska kiselina

DMT1 – dijabetes mellitus tipa 1

DMT2 – dijabetes mellitus tipa 2

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

DPP-4 – dipeptidil peptidaza – 4

eGFR – procijenjena glomerularna filtracija (eng. *Estimated Glomerular Filtration Rate*)

EMA – Europska agencija za lijekove (eng. *European Medicines Agency*)

EPA – eikozapentaenska kiselina

FAS – sintaza masnih kiselina (eng. *Fatty Acid Synthase*)

FDA – eng. *U.S. Food and Drug Administration*

FIB-4 – fibroza – 4 indeks za jetrenu fibrozu (eng. *Fibrosis-4 Index for Liver Fibrosis*)

FGF – faktor rasta fibroblasta (eng. *Fibroblast Growth Factor*)

FXR – farnezoidni X receptor

GGT – γ -glutamil transferaza

GIP – гастриčni inhibitorni polipeptid (eng. *Gastric Inhibitory Polypeptide*)

GIT – gastrointestinalni trakt

GLP-1 – glukagonu sličan peptid tipa 1 (eng. *Glucagone – Like Peptide Type 1*)

GPCR – receptor vezan za G-protein (eng. *G-Protein Coupled Receptor*)

GSH – glutation

GUK – glukoza u krvi

HbA1c – hemoglobin A1c

HDL – lipoprotein visoke gustoće (eng. *High-Density Lipoprotein*)

IGF-1 -inzulinski faktor rasta 1 (eng. *Insuline-Growth-Like-Factor 1*)

IJ – internacionalna jedinica

IL-1 – interleukin -1

IL -1B - interleukin -1B

IL-6 – interleukin - 6

IL-8 – interleukin – 8

IR – inzulinska rezistencija

JNK – eng. *c-Jun N-terminal kinase*

LDL – lipoprotein niske gustoće (eng. *Low-Density Lipoprotein*)

LPS - lipopolisaharid

HALMED – Hrvatska agencija za lijekove i medicinske proizvode

HMG-CoA – hidroksimetilglutaril-koenzim A

HSC - zvjezdolika stanica jetre (engl. *Hepatic Stellate Cell*)

MAFLD – metabolički poremećaj povezan s nealkoholnom masnom bolesti jetre (eng. *Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease*)

MEK – mitogenom aktivirana protein kinaza (eng. *Mitogen-Activated Protein Kinase*)

miRNA – mikro ribonukleinska kiselina

MPC – mitohondrijski nosač piruvata (eng. *Mitochondrial Pyruvate Carrier*)

MR – magnetska rezonanca

MRI – PDFF – magnetska rezonanca protonske gustoće masne frakcije (eng. *Magnetic Resonance Imaging Proton Density Fat Fraction*)

NAFLD – nealkoholna masna bolest jetre (eng. *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*)

NASH – nealkoholni steatohepatitis (eng. *Non-Alcoholic Steatohepatitis*)

NF- κ B – eng. *Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer Of Activated B Cells*

NFS – indeks fibroze za NAFLD (eng. *NAFLD Fibrosis Score*)

NYHA – eng. *New York Heart Association Classification*

OATP1B1 – organski anionski transporter tipa 1B1 (eng. *Solute Carrier Organic Anion Transporter Family Member 1B1*)

OCA – obetikolična kiselina

PPAR – peroksisom proliferator aktivirani receptori (eng. *Peroxisome Proliferator-Activated Receptors*)

RAAS – renin-angiotenzin-aldosteronski sustav

ROS – reaktivni kisikovi spojevi (eng. *Reactive Oxygen Species*)

SCD-1 – stearoil -CoA desaturaza 1

SGLT-2 – natrij – glukoza transporter tipa 2 (eng. *Sodium-Glucose Transporter Type 2*)

SREBP-1C - protein koji veže regulatorne elemente sterola tipa 1 (eng. *Sterol Regulatory Element-Binding Protein 1*)

ŠBT2 – šećerna bolest tipa 2

TAG - triacilgliceroli

T2DM - dijabetes mellitus tipa 2

TGR5 Takeda G-proteinom vezani receptor tipa 5 (eng. *Takeda G-Protein-Coupled Receptor 5*)

Th17 – T pomagački limfociti (eng. *T Helper 17 Cells*)

TLR4 - eng. *Toll-Like Receptor Type 4*

TNF – tumor nekrotizirajući faktor (eng. *Tumor Necrosis Factor*)

VDR – receptor za vitamin D

VLDL – lipoprotein vrlo male gustoće (eng. *Very Low Density Lipoprotein*)

TE – tranzijentna elastografija

TGF- β - eng. *Transforming Growth Factor B*

THR- β – receptor za tiroidni hormon β (eng. *Thyroid Hormone Receptor B*)

7. SAŽETAK/SUMMARY

NASH i NAFLD vodeći su uzroci transplantacije jetre današnjice. Nezdrava prehrana i kronični stres dovode do neravnoteže u metabolizmu masti što dovodi do povećanog nakupljanja lipida u hepatocitima. Današnji pristup liječenju bolesti je promjena životnog stila uvođenjem redovite fizičke aktivnosti te kalorijskog manjka uz dodatke prehrani. Često taj cilj nije lako ostvariv pa se mora posegnuti za farmakoterapijom. Današnji lijekovi još uvijek se primjenjuju *off-label*. Od trenutno korištenih lijekova, najviše su u primjeni pioglitazon i GLP-1 agonisti, a od novijih lijekova, najviše potencijala ima obetikolična kiselina, iako se i uz nju vežu neke nuspojave, poput svrbeža i povećanja LDL-a. Iz perspektive farmaceuta, pacijente je bitno savjetovati o dodacima prehrani koji mogu pomoći kao pomoćna terapija. Najviše se koriste antioksidansi, silimarin i vitamin E, no njegovo doziranje je upitno. Sve češće se naglašava i važnost primjene probiotika. Zaključno, radi se o vrlo zahtjevnom terapijskom području koje se sve više istražuje i predstavlja veliki interes s obzirom na stalan rast oboljelih.

Summary

NASH and NAFLD are the leading causes of liver transplantation today. Unhealthy diet and chronic stress lead to an imbalance in fat metabolism, which leads to increased accumulation of lipids in hepatocytes. Today's approach to the treatment of the disease is to change the lifestyle by introducing regular physical activity and a caloric deficit with nutritional supplements. Often this goal is not easily achievable, so pharmacotherapy must be resorted to. Today's drugs are still administered off-label. Of the currently used drugs, pioglitazone and GLP-1 agonists are the most used, and of the newer drugs, obeticholic acid has the most potential, although it also has some side effects, such as itching and an increase in LDL. From a pharmacist's perspective, it is important to advise patients about nutritional supplements that can help as adjunctive therapy. Antioxidants, silymarin and vitamin E are mostly used, but its dosage is questionable. The importance of the use of probiotics is increasingly emphasized. In conclusion, it is a very demanding therapeutic area that is increasingly being researched and is of great interest considering the constant growth of patients.

8. LITERATURA

- Attia SL , Softic S, Mouzaki M. Evolving Role for Pharmacotherapy in NAFLD/NASH. *Clin Transl Sci*, 2021, 14, 11–194
- Barton Duell P, Welty FK, Miller M, Chait A, Hammond G, Ahmad Z, Cohen DE, Horton JD, Pressman GS, Toth PP. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Cardiovascular Risk: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2022, 42, 168–185
- Bischoff SC, Bernal W, Dasarathy S, Merli M, Plank LD, Schütz T, Plauth M. ESPEN practical guideline: Clinical nutrition in liver disease. *Clinical Nutrition*, 2020, 39, 3533-3562
- Bukmir L, Smorković H, Diminić-Lisica I, Ljubotina A, Popović B. Nealkoholna masna bolest jetre. *Acta Med Croatica*, 2015, 69, 305-310
- Katzung BM, Masters BS, Trevor AJ. Temeljna i klinička farmakologija. U: Lijekovi za liječenje dislipidemija. Malloy MJ, Kane JP, urednici, Zagreb, 2011., str. 605-619
- Katzung BM, Masters BS, Trevor AJ. Temeljna i klinička farmakologija. U: Hormoni gušterače i lijekovi za liječenje šećerne bolesti. Nolthe MS, Zagreb, 2011., str. 727-752
- Cho Y, Lee YH. State-of-the-Art Overview of the Pharmacological Treatment of Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Endocrinol Metab.*, 2022, 37, 38-52
- De A, Duseja A. Fatty liver - Current and future treatment: A narrative review. *Apollo Med*, 2021, 18, 243-248.
- Dekant W, Fujii K, Shibata E, Morita O, Shimotoyodome A. Safety assessment of green tea based beverages and dried green tea extracts as nutritional supplements. *Toxicology Letters*, 2017, 277,104-108
- Dufour JF , Anstee QM , Bugianesi E , Harrison S, Loomba R ,Paradis V, Tilg H , Wai-Sun Wong V, Zelber-sagi S. Current therapies and new developments in NASH. *Gut*, 2022, 71, 2123–2134
- Esler WP, Bence KK. Metabolic Targets in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2019, 8, 247–267

- Griffin C, Bahirwani R. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: A patient-friendly summary of the 2018 AASLD guidelines. *Clinical Liver Disease*, 2022, 19, 222–226
- Gupta H, Min BH, Ganesan R, Gebru YA, Sharma SP, Park, E, Won SM, Jeong JJ, Lee SB, Cha MG, Kwon GH, Jeong MK, Hyun JY, Eom JA, Park HJ, Yoon SJ, Choi MR, Kim DJ, Suk KT. Gut Microbiome in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: From Mechanisms to Therapeutic Role. *Biomedicines* 2022, 10, 550
- Hochreuter MY, Dall M, Treebak JT, Barrès R. MicroRNAs in non-alcoholic fatty liver disease: Progress and perspectives. *Molecular Metabolism*, 2022, 65, 101
- Jung CH, Mok JO. The Effects of Hypoglycemic Agents on Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Focused on Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors and Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists. *Journal of Obesity & Metabolic Syndrome* 2019, 28, 18-29
- Kanižaj Filipec T, Mijić M, Mikolašević I. Treatment of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Medicus* 2020, 29(1), 49-52
- Milić S, Lulić D, Mikolašević I. Obesity and Fatty Liver, Role of Vitamin D. *Medicus*, 2018, 27(1), 29-32
- Mikolašević I, Milić S, Orlić L, Stanić M, Štimac D, Mavrinac V, Palčevski- Vlahović V. Liječenje nealkoholne masne bolesti jetre. *Medicina fluminensis*, 2016, 52, 2, 157-164.
- Mofidi F, Poustchi H, Yari Z, Nourinayyer B, Merat S, Sharafkhah M, Malekzadeh R, Hekmatdoost A. Synbiotic supplementation in lean patients with non-alcoholic fatty liver disease: a pilot, randomised, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *British Journal of Nutrition*, 2017, 117, 662–668
- Powel EE, Wong Wai-Sun V, Rinella M. Non-alcoholic fatty liver disease. *Lancet*, 2021, 397, 2212–24
- Prikhodko VA, Bezborodkina NN, Okovityi SV. Pharmacotherapy for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Emerging Targets and Drug Candidates. *Biomedicines* 2022, 10, 274.
- Rang HP, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. Farmakologija. U: Ateroskleroza i metabolizam lipoproteina. Todorović Z, urednik, Beograd, 2019a, str. 285-292

Rang HP, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. Farmakologija. U: Kontrola glikemije i lijekovi za liječenje dijabetesa melitusa. Todorović Z, urednik, Beograd, 2019b, str. 380-392

Salvoza N, Giraudi PJ, Tiribelli C, Rosso N. Natural Compounds for Counteracting Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): of the Suggested Candidates. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 2764

Takahashi Y, Sugimoto K, Inui H, Fukusato T. Current pharmacological therapies for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterology*, 2015, 21(13), 3777–3785

Virović Jukić L, Grgurević I, Mikolašević I, Filipec Kanižaj T, Milić S, Mrzljak A, Premužić M, Hrstić I, Knežević Štromar I, Ljubičić N, Ostojić R, Stojšavljević Šapeski S, Amerl-Šakić V, Bašić Marković N, Rađa M, Soldo D, Sobočan N, Lalovac M, Puljiz Ž, Podrug K, Ladić D. Hrvatske smjernice za dijagnostiku i liječenje nealkoholne bolesti masne jetre. *Acta Clin Croat (Suppl. 2)*, 2021, 60, 53-64.

Xian YX, Weng JP, Xu F. MAFLD vs. NAFLD: shared features and potential changes in epidemiology, pathophysiology, diagnosis, and pharmacotherapy. *Chinese Medical Journal*, 2021, 1, 134.

Zhang Z, Moon R, Thorne JL, Moore JB. NAFLD and vitamin D: Evidence for intersection of microRNA-regulated pathways. *Nutrition Research Reviews*, 2021, 7, 1-20

Zhong QW, Wu YY, Xiong F, Liu M, Liu YP, Wang C, Chen YM. Higher flavonoid intake is associated with a lower progression risk of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a prospective study. *British Journal of Nutrition*, 2021, 125, 460–470

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za farmakologiju
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

FARMAKOTERAPIJSKE MOGUĆNOSTI U LIJEČENJU NEALKOHOLNE MASNE JETRE

Roberta Zorinić

SAŽETAK

NASH i NAFLD vodeći su uzroci transplantacije jetre današnjice. Nezdrava prehrana i kronični stres dovode do neravnoteže u metabolizmu masti što dovodi do povećanog nakupljanja lipida u hepatocitima. Današnji pristup liječenju bolesti je promjena životnog stila uvođenjem redovite fizičke aktivnosti te kalorijskog manjka uz dodatke prehrani. Često taj cilj nije lako ostvariv pa se mora posegnuti za farmakoterapijom. Današnji lijekovi još uvijek se primjenjuju *off-label*. Od trenutno korištenih lijekova, najviše su u primjeni pioglitazon i GLP-1 agonisti, a od novijih lijekova, najviše potencijala ima obetikolična kiselina, iako se i uz nju vežu neke nuspojave, poput svrbeža i povećanja LDL-a. Iz perspektive farmaceuta, pacijente je bitno savjetovati o dodacima prehrani koji mogu pomoći kao pomoćna terapija. Najviše se koriste antioksidansi, vitamin E, no njegovo doziranje je upitno i silimarin. Sve češće se naglašava i važnost primjene probiotika. Zaključno, radi se o vrlo zahtjevnom terapijskom području koje se sve više istražuje i predstavlja veliki interes s obzirom na stalan rast oboljelih.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 47 stranica, 2 grafičkih prikaza, 0 tablice i 29 literaturni navod. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Nealkoholna masna jetra, antioksidansi, obetikolična kiselina, silimarin

Mentor: **Dr. sc. Petra Turčić**, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Petra Turčić**, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Željko Maleš, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Maja Ortner Hadžić, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: lipanj 2023.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Pharmacology
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

PHARMACOTHERAPY TREATMENT OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Roberta Zorinić

SUMMARY

NASH and NAFLD are the leading causes of liver transplantation today. Unhealthy diet and chronic stress lead to an imbalance in fat metabolism, which leads to increased accumulation of lipids in hepatocytes. Today's approach to the treatment of the disease is to change the lifestyle by introducing regular physical activity and a caloric deficit with nutritional supplements. Often this goal is not easily achievable, so pharmacotherapy must be resorted to. Today's drugs are still administered off-label. Of the currently used drugs, pioglitazone and GLP-1 agonists are the most used, and of the newer drugs, obeticholic acid has the most potential, although it also has some side effects, such as itching and an increase in LDL. From a pharmacist's perspective, it is important to advise patients about nutritional supplements that can help as adjunctive therapy. Antioxidants, silymarin and vitamin E are mostly used, but its dosage is questionable. The importance of the use of probiotics is increasingly emphasized. In conclusion, it is a very demanding therapeutic area that is increasingly being researched and is of great interest considering the constant growth of patients.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 47 pages, 2 figures, 0 tables and 29 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Nonalcoholic liver disease, antioxidants, obeticholic acid, milk thistle

Mentor: **Petra Turčić, Ph.D.** *Associate Professor* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Petra Turčić, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Željko Maleš, Ph.D. *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Maja Ortner Hadžiabdić, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: June 2023.