Leczenie niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby NAFLD

Katarzyna Juszczyńska

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Polska

Farmacja Polska, ISSN 0014-8261 (print); ISSN 2544-8552 (on-line)

Adres do korespondencji

Katarzyna Juszczyńska, Katedra Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław, Polska;
e-mail: katarzyna.juszczyńska@umed.wroc.pl

Źródła finansowania

Nie wskazano źródeł finansowania.

Konflikt interesów

Nie istnieje konflikt interesów.

Otrzymano: 2021.04.29

Zaakceptowano: 2021.06.10

Opublikowano on-line: 2021.06.14

DOI

10.32383/farmpol/138770

ORCID

Katarzyna Juszczyńska (ORCID id: 0000-0001-9616-3207)

Copyright

© Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne

To jest artykuł o otwartym dostępie,
na licencji CC BY NC

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Treatments for NAFLD

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is categorized into simple steatosis, termed nonalcoholic fatty liver (NAFL) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH). NASH is characterized by steatosis, hepatocyte damage, inflammation, and liver fibrosis, which through cirrhosis leads to organ failure, including hepatocellular carcinoma. The development of effective non-alcoholic fatty liver disease therapies depends on basic biomedical research on liver metabolism or the body's response to factors of metabolic syndrome. This article presents important information on in vitro experimental models (including multilayer co-cultures of cells, spheroids, microprocessor technologies, bioprinting) and animal models (diet-induced models, genetic models, and models of combinations of various interventions) of non-alcoholic fatty liver disease enabling refinement of therapeutic targets that can accelerate drug development. The emerging targets for drug development intended to stop or reverse disease progression were discussed. The research on the reduction of fibrosis in the course of non-alcoholic fatty liver disease and the optimization of brown adipose function (BAT) for mitigating metabolic syndrome and nonalcoholic was presented. The development of NASH is also associated with the appearance of chronic inflammation. Thus, pro-inflammatory pathways involving inflammatory mediators represent potential therapeutic targets. Weight loss caused by diet and lifestyle changes, as a result, reduces the supply of metabolic substrates to the liver, which in turn slows the progression of non-alcoholic fatty liver disease and reduces the process of liver fibrosis. Therefore, the therapy has also focused on metabolic pathways that can be used to treat non-alcoholic fatty liver disease by limiting the supply of metabolic substrates to the liver or facilitating their degradation. It also discusses different strategies that involve combination therapies.

Keywords: animal models, liver disease, metabolic syndrome, pharmacological treatments, steatosis.

© Farm Pol, 2021, 77(5): 281–286

Wstęp

Według definicji niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby (ang. *nonalcoholic fatty liver disease*, NAFLD) obejmuje stłuszczenie wątroby w badaniach obrazowych lub w badaniu histologicznym oraz niewystępowanie przyczyn wtórnego nagromadzenia tłuszczu w wątrobie, takich jak spożywanie znacznych ilości alkoholu, przyjmowanie leków powodujących stłuszczenie lub choroby dziedziczne. Na podstawie obrazu histopatologicznego NAFLD dzieli się na: niealkoholowe stłuszczenie (ang. *nonalcoholic fatty liver*, NAFL) i niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby (ang. *nonalcoholic steatohepatitis*, NASH). Wpływ NAFLD na zdrowie publiczne sprawił, że choroba stała się nowym wyzwaniem cywilizacyjnym, które wywołuje duże zainteresowanie wśród pacjentów, farmaceutów i biotechnologów. Pomimo ograniczonej dostępności badań klinicznych, jest już pewne, że poprawę obrazu histologicznego wątroby u pacjentów z NASH można osiągnąć farmakologicznie. Niemniej jednak należy wykazać długotrwałość efektów farmakoterapii i ich związek z poprawą wyników klinicznych, w tym ze zmniejszeniem stopnia zaawansowania marskości wątroby, powikłań schyłkowej niewydolności wątroby, ryzyka przeszczepu narządu i wystąpieniem raka wątrobowokomórkowego. Pożądane jest, aby terapie dodatkowo łagodziły objawy zespołu metabolicznego, uznawanego za jeden z czynników sprawczych NAFLD. Sukces opracowania skutecznego leczenia farmakologicznego NAFLD zależy od podstawowych badań biomedycznych, obejmujących mikrobiom, metabolizm wątrobowy i odpowiedź na uszkodzenie oraz ogólnoustrojowe konsekwencje otyłości i zespołu metabolicznego [1].

Celem artykułu jest przedstawienie wiedzy na temat postępów w badaniach nad zastosowaniem modulatorów farmakologicznych, pozwalających na kontrolę zaburzeń metabolicznych, stanu zapalnego oraz procesu włóknienia z udziałem stresu komórkowego i apoptozy komórek wątroby, jako celu terapeutycznego w leczeniu niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby, w tym niealkoholowego

stłuszczenia (NAFL) i niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby (NASH).

Przedkliniczne modele NAFLD

Zapotrzebowanie na opracowanie skutecznej terapii przyspieszyło rozwój modeli *in vitro* i zwierzęcych modeli NASH. Ważnymi aspektami prowadzonych badań była identyfikacja potencjalnych celów leczenia oraz weryfikacja potencjału terapeutycznego leków stosowanych pojedynczo lub w kombinacjach, przed rozpoczęciem badań klinicznych.

Doświadczalne modele NAFLD (głównie NASH) *in vitro* to proste systemy wykorzystujące hodowle komórkowe ludzkich hepatocytów, poddane działaniu kwasów tłuszczowych i prozapalnych cytokin oraz zaawansowane modele oparte na trójwymiarowych, wielokomórkowych hodowlach z perfuzją lub bez perfuzji, naśladujące sinusooidalny przepływ krwi w wątrobie [2]. Do opracowania trójwymiarowych hodowli, w celu odtworzenia struktury zdrowej wątroby, wykorzystano różne techniki, w tym wielowarstwowe kokultury komórek, sferoidy, technologie mikroprocesorowe i bioprinting (tabela 1).

Modele organotypowe ludzkiej wątroby otrzymane przy zastosowaniu hodowli komórkowych, z zachowaniem wielokomórkowej struktury *in vivo*, poddane analizie transkryptomcznej, są wykorzystywane do oceny odpowiedzi na leki. Przykładem może być platforma komórkowa HemoShear, skonstruowana jako kokultura ludzkich hepatocytów i niemiąszowych komórek wątroby. Natomiast wątroba zaprojektowana metodą bioprintingu (Organovo ExVive), wykorzystująca linię komórkową ludzkiego wątrobiaka HepG2 (ang. *human hepatoma cells*), perfundowana wolnymi kwasami tłuszczowymi, stanowi model niealkoholowego stłuszczenia wątroby NAFL [7]. Wykorzystanie tego systemu jest ograniczone, ponieważ komórki HepG2 nie są w stanie samodzielnie odtworzyć wielokomórkowego środowiska zdrowej wątroby. Inny model do badań *in vitro* (CN BIO LiverChip) wykorzystuje ludzkie hepatocyty, komórki gwiazdziste i komórki Kupffera w komorze mikroprzepływowej,

Tabela 1. Wybrane doświadczalne modele *in vitro* niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby NAFLD (głównie niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby NASH).

Table 1. Selected *in vitro* experimental models of non-alcoholic fatty liver disease NAFLD (mainly nonalcoholic steatohepatitis, NASH)

Modele <i>in vitro</i>	Fenotyp i/lub znaczenie dla ludzkiej choroby
Hodowle 2D i 3D ludzkich hepatocytów	Krótkoterminowe badania transkryptomczne w zakresie leczenia farmakologicznego. Brak oceny tkanek objętych NASH [3, 4].
Organovo: model wątroby stworzony przy pomocy systemu bioprintingu	Ocena toksyczności leków. Badania nad odtworzeniem fenotypu ludzkiego NASH [5].
HemoShear: model wątroby skonstruowany <i>in vitro</i>	Ocena transkryptomcznej i metabolicznej odpowiedzi na leki w terapii NASH (podobnego do ludzkiej choroby) [6].

która zaopatrywana jest w wolne kwasy tłuszczowe, glukozę, insulinę oraz prozapalne cytokiny, w celu naśladowania mechanizmów patogenetycznych NASH [8]. Taki system pozwala odzwierciedlić zmiany transkrypcyjne i patofizjologiczne obserwowane w NASH, w tym zwiększenie procesu glukoneogenezy i lipogenezy *de novo*, nasilenie stresu oksydacyjnego, syntezy prozapalnych cytokin i czynników profibrogennych oraz aktywację komórek gwiazdzystych.

Wśród doświadczalnych modeli zwierzęcych NAFLD wyróżnia się modele indukowane dietą, modele genetyczne oraz modele będące kombinacją różnych ingerencji (tabela 2) [2]. Modele coraz częściej są oceniane na podstawie zbiorów cech powstających w oparciu o dane z analiz proteomicznych, lipidomicznych i transkrypcyjnych, a nie tylko na podstawie obrazu histologicznego wątroby. Niektóre z charakterystyk powstających w oparciu o dane z analiz transkrypcyjnych dotyczą zmian w odpowiedzi immunologicznej oraz zmian w metabolizmie kwasów tłuszczowych i glukozy [9].

Głównymi genetycznymi modelami zwierzęcymi NASH są genetycznie modyfikowane myszy, będące zwierzęcym modelem doświadczalnym otyłości i cukrzycy *ob/ob* (z niedoborem leptyny) i *db/db* (z niedoborem receptora leptyny) oraz myszy *foz/foz* (z niedoborem genu zespołu Alströma), i niektóre transgeniczne myszy

lub modele z nokautem genu (tabela 2). Najnowsze badania wykazały, że izogeniczne potomstwo szczepu myszy C57BL/6J skrzyżowanej ze szczepem myszy *s129/SvImJ* z ukierunkowanymi mutacjami rozwija otyłość oraz insulinooporność, stan zapalny tkanki tłuszczowej, dyslipidemię, NAFL, a następnie postępujące NASH ze zmianami transkrypcyjnymi i lipidomicznymi podobnymi do zmian zachodzących u pacjentów z NASH [10]. Model, w którym zwierzęta karmione są dietą „zachodnią” z cotygodniowym dodatkiem czterochlorku węgla (hepatotoksyny potęgującej urazy i włóknienie) również przypomina ludzkie NASH [11]. Powyższe modele odtwarzają postępujące stadia NAFLD, od prostego stłuszczenia przez NASH do marskości i raka wątrobowokomórkowego.

Leczenie włóknienia w przebiegu NAFLD

Postępujące włóknienie wątroby jest cechą charakterystyczną dla progresji NAFLD, a zatem zmniejszenie włóknienia jest ważnym celem terapeutycznym. Włóknienie i fibroliza występują jednocześnie w przebiegu trwałego uszkodzenia wątroby, jednak z czasem fibrogeniza przekracza zdolność wątroby do degradacji gromadzącej się macierzy zewnątrzkomórkowej. W związku z tym, przeciwdziałanie włóknieniu może polegać na hamowaniu fibrogeny i/lub przyspieszaniu fibrolizy. W dwóch dużych badaniach z udziałem

Tabela 2. Wybrane doświadczalne modele zwierzęce niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby NAFLD (niealkoholowego stłuszczenia wątroby NAFL i niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby NASH) [12].

Table 2. Selected experimental animal models of nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD (nonalcoholic fatty liver NAFL and nonalcoholic steatohepatitis NASH).

Modele zwierzęce	Fenotyp i/lub znaczenie dla ludzkiej choroby
Modele indukowane dietą	
Dieta z niedoborem metioniny i choliny (MCD)	Cechy histologiczne ludzkiego NASH. Brak insulinooporności oraz zgodności transkryptomu wątroby z ludzkim NASH.
Dieta wysokotłuszczowa z niedoborem choliny, L-aminokwasowa (CDAA).	Brak insulinooporności. Obecność włóknienia wątroby.
Dieta o wysokiej zawartości tłuszczu, fruktozy i cholesterolu (AMLN dieta).	Cechy histologiczne i metaboliczne ludzkiego NASH z rozsianym włóknieniem.
Modele genetyczne	
<i>ob/ob</i>	Postreceptorowa insulinooporność i stłuszczenie wątroby. Brak włóknienia wątroby.
<i>db/db</i>	Nietolerancja glukozy (stan przedcukrzycowy), otyłość i stłuszczenie wątroby. Nieistotne włóknienie wątroby (dieta wysokotłuszczowa).
Otyły (<i>fa/fa</i>) szczur Zucker	Hiperfagia, insulinooporność i otyłość. Stłuszczenie wątroby z nieistotnym włóknieniem.
<i>foz/foz</i>	Otyłość, insulinooporność, stłuszczenie wątroby oraz umiarkowane włóknienie (długoterminowa dieta wysokotłuszczowa).
SREBP-1c transgeniczny	Postreceptorowa insulinooporność i spontaniczne stłuszczeniowe zapalenie wątroby, długoterminowy stres oksydacyjny oraz okołozylne włóknienie.
MUP-uPA transgeniczny	Stres oksydacyjny, stłuszczenie wątroby, umiarkowane włóknienie oraz rak wątrobowokomórkowy HCC (dieta wysokotłuszczowa).
Szczur z nokautem genu LDLR	Istotne stłuszczenie wątroby (długoterminowa dieta cukrzycowa i z udziałem cholesterolu). Stan zapalny, stres oksydacyjny oraz umiarkowane włóknienie wątroby.

pacjentów z NASH sprawdzano efekt zahamowania oksydazy lizylowej-2 (ang. *lysyl oxidase-like 2*, LOXL2), enzymu biorącego udział w sieciowaniu kolagenu, przez specyficzne przeciwciało (*simtuzumab*). Zaobserwowano nasiloną degradację włókien kolagenowych, ale nie miało to przełożenia na istotną poprawę stanu klinicznego pacjentów. Ponieważ oba badania nie przyniosły oczekiwanych rezultatów, zawieszono prace nad zahamowaniem LOXL2 w NASH [13].

Białko szoku cieplnego 47 (ang. *heat shock protein 47*, HSP47) jest niezbędne do prawidłowej syntezy i wydzielania kolagenu przez aktywowane komórki gwiaździste. Obecnie trwają badania nad liposomalną formułą zawierającą siRNA, który zapewni wyciszenie ekspresji HSP47 i przez to przyczyni się do wzrostu wrażliwości komórek gwiaździstych na apoptozę [13].

Probiotyki i poprawa funkcji brunatnej tkanki tłuszczowej

Mikrobiom jelitowy odgrywa istotną rolę w wielu procesach fizjologicznych i patofizjologicznych zachodzących w przebiegu NAFLD, ponieważ niektóre bakterie mogą być źródłem toksycznych dla wątroby lipopolisacharydów. Obecnie probiotyki i siara bydłęca, pozyskiwana od krów immunizowanych lipopolisacharydami, poddawane są szczegółowym badaniom pod kątem leczenia NAFLD. Modulując florę bakteryjną jelit uzyskano u pacjentów z NASH poprawę funkcji wątroby oraz lepszą kontrolę glikemii [14].

Wzmocnianie czynności brunatnej tkanki tłuszczowej (ang. *brown adipose tissue*, BAT) jest ważnym mechanizmem ograniczającym cechy zespołu metabolicznego i NASH, chociaż nie jest to bezpośredni cel aktualnie testowanych terapii. Brunatna tkanka tłuszczowa odgrywa kluczową rolę w wytwarzaniu ciepła na drodze termogenezy z długolącuchowych kwasów tłuszczowych i glukozy. Przypuszcza się, że aktywna BAT może zapobiegać insulinooporności i otyłości. Badania nad cząsteczką o podwójnej aktywności, która jest ligandem jądrowego receptora wiążącego kwasy żółciowe (FXR) i związanego z białkiem G receptora kwasu żółciowego (TGR5), wykazały jej potencjał do zmiany fenotypu białej tkanki tłuszczowej w kierunku fenotypu BAT w zwierzęcym modelu NASH [14].

Stres komórkowy, apoptoza komórek i mediatory stanu zapalnego jako cele terapeutyczne w leczeniu NAFLD

Stres oksydacyjny i aktywacja odpowiedzi komórek na nieprawidłowo sfałdowane białka to dwa szlaki stresu komórkowego, które przyczyniają

się do śmierci komórek w NASH. Witaminę E w dawce 800 mg/24 h należy uznać za lek pierwszego wyboru u pacjentów z NASH potwierdzonym biopsją, ponieważ zmniejsza aktywność enzymów wątrobowych, stłuszczenie, stan zapalny oraz zmiany zwyrodnieniowe hepatocytów. Jednak nie jest ona zalecana do leczenia chorych z NASH i cukrzycą typu 2, z NAFLD bez potwierdzenia biopsją wątroby oraz z marskością wątroby o podłożu NASH [15].

Terapia farmakologiczna NAFLD obejmuje również ograniczenie procesu apoptozy. Przykładem jest *emricasan*, nieodwracalny inhibitor kaspaz, który ogranicza proces apoptozy, reakcję zapalną i proces włóknienia wątroby w przebiegu NASH. Modyfikacja szlaków sygnalizacyjnych jest jednak dużym wyzwaniem, ponieważ po obiecujących wynikach 1 fazy nad zahamowaniem kinazy regulującej sygnały apoptotyczne (ang. *apoptosis signal regulating kinase 1*, ASK-1), zawieszono prace nad jej selektywnym inhibitorem *selonsertibem* w fazie 3. Jakkolwiek badania biochemiczne wykazały, że *selonsertib* istotnie wpływa na ekspresję wątrobowych czynników odpowiedzialnych za proces włóknienia, jednakże efekty te nie okazały się istotne klinicznie [16].

Rozwój NASH jest związany również z pojawieniem się przewlekłego stanu zapalnego. Szlaki prozapalne z udziałem mediatorów stanu zapalnego, m.in. kinaz aktywowanych mitogenami, kinaz aktywowanych przez sygnały zewnętrzkomórkowe oraz jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF kappa B, stanowią potencjalne cele terapeutyczne. Aktywacja receptorów chemokin CCR2 i CCR5 nasila nieswoistą odpowiedź immunologiczną z udziałem makrofagów i łączy reakcję zapalną z aktywacją komórek gwiazdzystych wątroby i fibrogenezą. W badaniu klinicznym hamowanie aktywności receptorów CCR2 i CCR5 poprzez swoisty inhibitor spowolniło krótkotrwale włóknienie wątroby, ale istotnie wpływało na poprawę insulino-wrażliwości tkanek i metabolizm glukozy [16].

Terapie celowane na szlaki metaboliczne w niealkoholowej stłuszczeniowej chorobie wątroby

Terapie celowane na szlaki metaboliczne mogą być wykorzystywane do leczenia NAFLD poprzez ograniczenie dostarczania substratów metabolicznych do wątroby lub ułatwienie ich degradacji. Utrata masy ciała spowodowana dietą i zmianą stylu życia w efekcie zmniejsza dostarczanie substratów metabolicznych do wątroby, to z kolei ogranicza rozwój NAFLD i redukuje proces włóknienia wątroby [17].

Według przeprowadzonych badań, ligandy dla receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów (ang. *peroxisome proliferator-activated receptor*, PPAR) zmniejszają stłuszczenie, reakcję zapalną i zwyrodnienie balonowate hepatocytów, a także włóknienie wątroby. Znaczenie ligandów PPAR γ , takich jak *pioglitazon* czy *troglitazon*, ograniczają ich liczne działania niepożądane, takie jak: przyrost masy ciała, zatrzymanie płynów, osteopenia i zwiększone ryzyko złamań, zwłaszcza u starszych kobiet. *Pioglitazon* charakteryzuje się słabszym działaniem agonistycznym wobec PPAR γ niż *troglitazon*, ale pozwala osiągnąć pożądany cel terapeutyczny u pacjentów z NASH. Sugeruje to, że aktywność *pioglitazonu* jest regulowana przez dodatkowy mechanizm obejmujący kompleks mitochondrialny nazwany mitochondrialnym celem działania tiazolidynedionów (ang. *mitochondrial target of thiazolidinediones*, mTOT). Specyficzni agonści mTOT są obecnie w fazie 2B badań klinicznych [18].

Syntetyczne ligandy, które aktywują inny receptor jądrowy – receptor X farnesoidów (farnesoid X receptor, FXR), zwiększają wrażliwość tkanek na insulinę i wykazują bezpośrednie działanie przeciwzapalne i przeciwwłóknieniowe. Pierwowzorem dla tej klasy związków jest *kwask obeticholowy*, który hamuje wątrobową glukoneogenezę, lipogenezę i stłuszczenie [19]. Innym potencjalnym szlakiem aktywującym receptor FXR jest uwalnianie czynnika wzrostu fibroblastów 19 (ang. *fibroblast growth factor 19*, FGF19) z jelita, po związaniu kwasu żółciowego z FXR. Proliferacyjny i pronowotworowy wpływ FGF19 został wyeliminowany przez zastosowanie rekombinowanego FGF19, który wykazuje tylko korzystne działanie metaboliczne. W badaniu eksploracyjnym fazy 2A wykazano, że rekombinowany FGF19 (NGM282) zmniejsza aktywność enzymów wątrobowych u pacjentów z NASH [20]. Przedmiotem aktywnych badań w leczeniu NASH jest FGF21, który nie posiada aktywności mitogennej, uwalnia tkanki na insulinę, zapobiegając insulinooporności oraz wykazuje działanie przeciwwłóknieniowe [21].

Glukagonopodobny peptyd 1 (ang. *glucagon-like peptide-1*, GLP-1) jest hormonem jelitowym, który stymuluje wydzielanie insuliny, ogranicza uwalnianie glukagonu, a także zapobiega insulinooporności u pacjentów z NASH. Grupa analogów GLP-1, zwanych agonistami receptora GLP-1, znalazła zastosowanie w leczeniu pacjentów z cukrzycą typu 2 związaną z otyłością. Ponieważ cukrzyca i zespół metaboliczny prowadzący do NASH mają podobne podłoże patologiczne, sprawdzono możliwość wykorzystania analogów inkretyn do ograniczenia progresji stłuszczenia wątroby.

W badaniu klinicznym fazy II o akronimie LEAN, *liraglutyd*, wymagający codziennego wstrzykiwania, zmniejszał nasilenie NASH bez powodowania progresji włóknienia [22]. Obecnie trwają badania nad wykorzystaniem *semaglutynu* w NASH, który wykazuje działanie kardioprotekcyjne i ułatwia redukcję masy ciała, a dodatkowo opracowywana jest jego postać do podania doustnego [23].

Badaniom poddawane są również substancje, które biorą udział w regulacji metabolizmu glukozy i kwasów tłuszczowych. W szczególności są to agonści receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów PPAR α/δ , tj. o podwójnym działaniu zarówno na receptory PPAR α , jak i PPAR- δ , a także agonści PPAR α/γ . Pobudzenie składnika PPAR α aktywuje mitochondrialną β -oksydację kwasów tłuszczowych, natomiast pobudzenie składnika PPAR δ zmniejsza wychwyt kwasów tłuszczowych i ma działanie przeciwzapalne. *Elafibranor* jest prototypowym, podwójnym agonistą PPAR α/δ , który uwrażliwia tkanki na insulinę i zmniejsza stan zapalny. Inhibitory karboksylazy acylo-CoA zmniejszają lipogenezę *de novo* i wykazują potencjalne korzyści u chorych na NAFLD. Zmniejszenie lipogenezy *de novo* może jednak sprzyjać kompensacyjnemu wzrostowi aktywności białka wiążącego sekwencję odpowiedzi na sterole (ang. *sterol response element binding protein*, SREBP), które stymuluje syntezę triglicerydów z wolnych kwasów tłuszczowych i tym samym przyczynia się do hipertriglicydemii [24].

β -Selektywny agonista receptora dla hormonów tarczycy (ang. *thyroid hormone receptor*, THR) jest uważany za środek zmniejszający obciążenie lipotoksyczne. Wykazano też, że jego zastosowanie poprawia krążenie kwasów tłuszczowych u zdrowych ludzi i szybko redukuje stłuszczenie wątroby w próbie kontrolnej fazy 2A u chorych na NAFLD [25].

Terapie skojarzone

Korzystne efekty leczenia pojedynczym lekiem zaobserwowano u ok. 40% pacjentów z NAFLD, co może być uważane za niewystarczającą skuteczność dla prawnego zatwierdzenia długotrwałej monoterapii. Wobec powyższego, obecnie dąży się do opracowania terapii skojarzonych. Kombinacje mogą obejmować terapie z użyciem koniugatów, np. *aramcholu*, będącego składnikiem syntetycznego koniugatu kwas tłuszczowy/kwas żółciowy (ang. *fatty-acid/bile-acid conjugate*, FABAC), zawierającym związek kwasu arachidowego i kwasu cholewskiego [16]. Ponieważ patomechanizm NAFLD jest wieloczynnikowy, skuteczne mogą być też pojedyncze leki o różnych punktach uchwytu i sposobach działania. Wydaje się,

że preparaty z więcej niż jednym celem molekularnym bądź komórkowym będą najefektywniejszą terapią, o ile wszystkie składowe ich działania wykażą pożądany wpływ na chorobę i nie będą działać antagonistycznie [16].

Strategie łączenia leków są obecnie w dużej mierze empiryczne. W terapiach skojarzonych dąży się do połączenia związków przeciw poszczególnym składowym zespołom metabolicznym ze związkami o stwierdzonej lub potencjalnej aktywności przeciw włóknieniowej i/lub przeciwzapalnej. Obecnie brakuje kompleksowego zrozumienia kluczowych czynników indukujących NAFLD, które mogłyby stać się ważnymi punktami uchwytu wdrażanych terapii. W rezultacie, tworzone kombinacje leków ukierunkowane są na wychwycenie jak największej liczby potencjalnych czynników wpływających na NAFLD. Na podstawie badań przeprowadzonych na zwierzętach kombinacje tych leków wydają się być obiecującą formą terapii. Badania wskazują, że wszyscy pacjenci z podobnym obrazem histologicznym wątroby lub stadium NAFLD rozwinęli chorobę drogą identycznej patogenezы. Chociaż taka „spersonalizowana” terapia byłaby idealnym rozwiązaniem w leczeniu NASH, aktualnie pozostaje nieosiągalna [13].

Inna strategia dotyczy racjonalnej terapii skojarzonej. Strategia ta wykorzystuje obszerne dane, które oceniają zmiany ekspresji genów w tkance wątrobowej ze zmianami stłuszczeniowymi. Podobne rozwiązanie znalazło wcześniej zastosowanie w poszukiwaniu nowych sposobów leczenia raka wątrobowokomórkowego. Konsekwentne zmiany szlaków transkryptycznych w wątrobie w odpowiedzi na jeden lek, pozwoliłyby ujawnić niezmiennione szlaki, które można modyfikować drugim, uzupełniającym lekiem. Co więcej, takie strategię można zweryfikować, stosując metody *ex vivo*, np. formy organotypowe ludzkiej wątroby lub nowe platformy wielokomórkowe z ludzkimi komórkami wątroby [7].

Piśmiennictwo

1. Sodum N, Kumar G, Bojja SL, Kumar N, Rao CM. Epigenetics in NAFLD/NASH: Targets and therapy. *Pharmacol Res.* 2021; 167: 105484. doi: 10.1016/j.phrs.2021.105484.
2. Oseini AM, Cole BK, Issa D, Feaver RE, Sanyal AJ. Translating scientific discovery: the need for preclinical models of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatol Int.* 2018; 12(1): 6–16. doi: 10.1007/s12072-017-9838-6.
3. Barbero-Becerra VJ, Giraudi PJ, Chávez-Tapia NC, Uribe M, Tiribelli C, Rosso N. The interplay between hepatic stellate cells and hepatocytes in an in vitro model of NASH. *Toxicol In Vitro.* 2015; 29(7): 1753–1758. doi: 10.1016/j.tiv.2015.07.010.
4. Kozyma M, Johansson I, Nordling Å, Ullah S, Lauschke VM, Ingelman-Sundberg M. Human hepatic 3D spheroids as a model for steatosis and insulin resistance. *Sci Rep.* 2018; 24; 8(1): 14297. doi: 10.1038/s41598-018-32722-6.
5. Nguyen DG, Funk J, Robbins JB, Crogan-Grundy C, Presnell SC, Singer T, et al. Bioprinted 3D Primary Liver Tissues Allow Assessment of Organ-Level Response to Clinical Drug Induced Toxicity In Vitro. *PLoS One.* 2016; 11(7): e0158674. doi: 10.1371/journal.pone.0158674.
6. Feaver RE, Cole BK, Lawson MJ, Hoang SA, Marukian S, Blackman BR, et al. Development of an in vitro human liver system for interrogating nonalcoholic steatohepatitis. *JCI Insight.* 2016; 1(20): e90954. doi: 10.1172/jci.insight.90954.
7. Moore A, Wu L, Chuang JC, Sun X, Luo X, Gopal P, et al. Arid1a Loss Drives Nonalcoholic Steatohepatitis in Mice Through Epigenetic Dysregulation of Hepatic Lipogenesis and Fatty Acid Oxidation. *Hepatology* 2019; 69(5): 1931–1945. doi: 10.1002/hep.30487.
8. Cho HJ, Kim HJ, Lee K, Lasli S, Ung A, Hoffman T, et al. Bioengineered Multicellular Liver Microtissues for Modeling Advanced Hepatic Fibrosis Driven Through Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Small.* 2021; 17(14): e2007425. doi: 10.1002/smll.202007425.
9. Peng C, Stewart AG, Woodman OL, Ritchie RH, Qin CX. Non-Alcoholic Steatohepatitis: A Review of Its Mechanism, Models and Medical Treatments. *Front Pharmacol.* 2020; 3(11): 603926. doi: 10.3389/fphar.2020.603926.
10. Van Herck MA, Vonghia L, Francque SM. Animal Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease—A Starter's Guide. *Nutrients.* 2017; 9(10): 1072. doi: 10.3390/nu9101072.
11. Harris SE, Poolman TM, Arvaniti A, Cox RD, Gathercole LL, Tomlinson JW. The American lifestyle-induced obesity syndrome diet in male and female rodents recapitulates the clinical and transcriptomic features of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2020; 319(3): G345–G360. doi: 10.1152/ajpgi.00055.2020.
12. Oligschlaeger Y, Shiri-Sverdlov R. NAFLD Preclinical Models: More than a Handful, Less of a Concern? *Biomedicines* 2020; 8(2): 28. doi: 10.3390/biomedicines8020028.
13. Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, Sanyal AJ. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med.* 2018; 24: 908–922. doi: 10.1038/s41591-018-0104-9.
14. Albhaisi SAM, Bajaj JS, Sanyal AJ. Role of gut microbiota in liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2020; 318: 84–98. doi: 10.1152/ajpgi.00118.2019.
15. Abdel-Maboud M, Menshawy A, Menshawy E, Emara A, Alshandidy M, Eid M. The efficacy of vitamin E in reducing non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Therap Adv Gastroenterol.* 2020; 7(13): 1756284820974917. doi: 10.1177/1756284820974917.
16. Stojavljevic-Shapeski S, Duvnjak M, Virovic-Jukic L, Hrabar D, Smircic Duvnjak L. New Drugs on the Block—Emerging Treatments for Nonalcoholic Steatohepatitis. *J Clin Transl Hepatol.* 2021; 9(1): 51–59. doi: 10.14218/JCTH.2020.00057.
17. Xanthakos SA. Pharmacological, Endoscopic, Metabolic, and Surgical Procedures for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Liver Dis (Hoboken).* 2021; 13; 17(3): 209–214. doi: 10.1002/cld.1030.
18. Said A, Akhter A. Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials of Pharmacologic Agents in Non-alcoholic Steatohepatitis. *Ann Hepatol.* 2017; 16(4): 538–547. doi: 10.5604/01.3001.0010.0284.
19. Venetsanaki V, Karabouta Z, Polyzos SA. Farnesoid X nuclear receptor agonists for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Eur J Pharmacol.* 2019; 863: 172661. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172661.
20. Harrison SA, Rinella ME, Abdelmalek MF, Trotter JF, Paredes AH, Arnold HL, et al. NGM282 for treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet* 2018; 391(10126): 1174–1185. doi: 10.1016/S0140-6736(18)30474-4.
21. Staiger H, Keuper M, Berti L, Hrabe de Angelis M, Häring HU. Fibroblast Growth Factor 21—Metabolic Role in Mice and Men. *Endocr Rev.* 2017; 38(5): 468–488. doi: 10.1210/er.2017-00016.
22. Armstrong MJ, Gaunt P, Aithal GP, Barton D, Hull D, Parker R, et al. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet* 2016; 387(10019): 679–690. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00803-X.
23. Katsiki N, Athyros VG, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Semaglutide, lipid-lowering drugs, and NAFLD. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017; 5(5): 329–330. doi: 10.1016/S2213-8587(17)30109-2.
24. Kim CW, Addy C, Kusunoki J, Anderson NN, Deja S, Fu X, et al. Acetyl CoA Carboxylase Inhibition Reduces Hepatic Steatosis but Elevates Plasma Triglycerides in Mice and Humans: A Bedside to Bench Investigation. *Cell Metab.* 2017; 26(2): 394–406.e6. doi: 10.1016/j.cmet.2017.07.009.
25. Tanase DM, Gosav EM, Neculae E, Costea CF, Ciocoiu M, Hurjui LL, et al. Hypothyroidism-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease (HIN): Mechanisms and Emerging Therapeutic Options. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(16): 5927. doi: 10.3390/ijms21165927.