

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Doktorský studijní program v biomedicíně

Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Mgr. Irena Míková, roz. Hejlová

Metabolická a genetická rizika vzniku a rozvoje nealkoholové tukové choroby jater u pacientů po transplantaci jater a její význam pro přežívání pacientů a štěpů

Metabolic and genetic risks of development of non-alcoholic fatty liver disease in patients after liver transplantation and its impact on patient and graft survival

Disertační práce

Vedoucí závěrečné práce: MUDr. Pavel Trunečka, CSc.

Praha, 2022

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 8.6.2022

Irena Míková

Identifikační záznam:

MÍKOVÁ, Irena. *Metabolická a genetická rizika vzniku a rozvoje nealkoholové tukové choroby jater u pacientů po transplantaci jater a její význam pro přežívání pacientů a štěpů. [Metabolic and genetic risks of development of non-alcoholic fatty liver disease in patients after liver transplantation and its impact on patient and graft survival.]* Praha, 2022. 95 stran, 3 přílohy. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, IKEM, Klinika hepatogastroenterologie. Vedoucí práce Trunečka, Pavel.

Poděkování

Děkuji svému školiteli MUDr. Pavlu Trunečkovi, CSc. za odborné vedení a ochotu v průběhu PhD. studia a při přípravě závěrečné práce. Ráda bych poděkovala i svému konzultantovi prof. MUDr. Mgr. Milanu Jirsovi, CSc. za cenné rady a věcné připomínky, které mi pomohly tuto práci připravit. Mé poděkování patří i RNDr. Věře Lánské za statistické zpracování dat a pacientům, kteří poskytli svůj biologický materiál k vyšetření v rámci studií.

Doktorský studijní program v biomedicině

Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc.

Školící pracoviště: Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika

Vedoucí závěrečné práce: MUDr. Pavel Trunečka, CSc.

Institut klinické a experimentální medicíny

Klinika hepatogastroenterologie, Praha, Česká republika

Konzultant:

prof. MUDr. Mgr. Milan Jirsa, CSc.

Institut klinické a experimentální medicíny a 1. lékařská fakulta,

Univerzita Karlova v Praze, Česká republika

Odeslání disertační práce: Červen 2022

Obsah

Souhrn.....	11
Abstract.....	12
Seznam zkratek.....	13
1. Úvod.....	17
1.1. Prevalence nealkoholové tukové choroby jater (NAFLD) v obecné populaci a u pacientů po transplantaci jater (LT).....	18
1.2. Získané příčiny NAFLD v obecné populaci a u pacientů po LT.....	19
1.2.1. Obezita.....	19
1.2.2. Vysoký příjem jednoduchých cukrů a nasycených tuků.....	20
1.2.3. Nedostatek fyzické aktivity.....	20
1.3. Metabolické rizikové faktory NAFLD v obecné populaci a u pacientů po LT.....	21
1.3.1. Inzulinová rezistence (IR).....	21
1.3.2. Metabolický syndrom.....	22
1.3.3. Diabetes mellitus 2.typu.....	22
1.3.4. Dyslipidémie.....	23
1.4. Genetické rizikové faktory NAFLD v obecné populaci a u pacientů po LT.....	23
1.4.1. PNPLA3.....	23
1.4.2. TM6SF2.....	25
1.4.3. Ostatní genetické faktory.....	26
1.4.4. Interakce genů s vnějším prostředím a epigenetické faktory.....	27
1.5. Patogeneze nealkoholové steatohepatitidy (NASH).....	27
1.6. Význam NAFLD v obecné populaci a u pacientů po LT.....	30
2. Cíle disertační práce.....	33
3. Metodika.....	35
3.1. Hodnocení steatózy jaterního štěpu histologickým vyšetřením.....	35
3.2. Genotypizace <i>TM6SF2</i> rs58542926, <i>PNPLA3</i> rs738409.....	35
3.3. Hodnocení IR.....	35
3.4. Statistické hodnocení.....	35
4. Výsledky a diskuze.....	37
4.1. Hodnocení prevalence, vývoje, rizikových faktorů a významu steatózy po LT (publikace č.1 k tématu disertace).....	37
4.1.1. Prevalence, incidence a vývoj steatózy/steatohepatitidy po LT.....	38
4.1.2. Předtransplantační a potransplantační metabolické rizikové faktory steatózy/steatohepatitidy po LT.....	39
4.1.3. Vliv steatózy/steatohepatitidy po LT na progresi fibrózy a funkci štěpu.....	43
4.1.4. Vliv steatózy po LT na celkovou a jaterní mortalitu pacientů.....	43
4.1.5. Diskuze.....	44

4.2. Význam genotypů <i>TM6SF2</i> rs58542926 a <i>PNPLA3</i> rs738409 dárce a příjemce v patofyziologii steatózy po LT (publikace č.2 k tématu disertace)	47
4.2.1. Frekvence genotypů <i>TM6SF2</i> rs58542926 a <i>PNPLA3</i> rs738409 u příjemců, dárců a v obecné populaci.....	48
4.2.2. Příspěvek genotypů <i>TM6SF2</i> rs58542926 a <i>PNPLA3</i> rs738409 dárce a příjemce k rozvoji steatózy po LT.....	49
4.2.3. Vliv interakce alel <i>TM6SF2</i> c.499A a <i>PNPLA3</i> c.444G dárce na obsah jaterního tuku po LT.....	51
4.2.4. Účinky alel <i>TM6SF2</i> c.499A a <i>PNPLA3</i> c.444G dárce významně stoupají s vyšším BMI příjemce.....	52
4.2.5. Alely <i>TM6SF2</i> c.499A a <i>PNPLA3</i> c.444G dárce a alela <i>PNPLA3</i> c.444G příjemce jsou asociovány s vyšším NAS v hodnocené biopsii.....	52
4.2.6. Diskuze.....	52
4.3. Význam inzulínové rezistence (IR) pro vznik a progresi NAFLD po LT (publikace č.3 k tématu disertace)	55
4.3.1. Prevalence a vývoj IR před a po LT.....	56
4.3.2. Vztah předtransplantační IR a klinických a metabolických faktorů.....	59
4.3.3. Vztah potransplantační IR a klinických a metabolických faktorů a podávané imunosuprese.....	60
4.3.4. Vztah potransplantační IR ke vzniku a progresi NAFLD po LT hodnocené histologicky, MR vyšetřením a elastografií.....	60
4.3.5. Diskuze.....	61
5. Souhrn výsledků	65
6. Seznam publikací a prezentací k tématu disertace	67
6.1. Publikace.....	67
6.2. Kapitoly v monografii.....	67
6.3. Prezentace.....	67
7. Seznam ostatních publikací a prezentací	71
7.1. Publikace.....	71
7.2. Prezentace.....	72
8. Literatura	77
9. Přílohy	95

Souhrn

Nealkoholová tuková nemoc jater (NAFLD) se často vyskytuje nejen v obecné populaci, ale i u pacientů po transplantaci jater (LT). Data o prevalenci, vývoji, příčinách a významu steatózy u pacientů po LT jsou omezená.

V rozsáhlé retrospektivní studii pacientů po LT s histologickým hodnocením steatózy jsme zjistili vysokou prevalenci steatózy (56,4 %) a steatohepatitidy (10,4 %), přičemž prevalence steatózy narůstala s dobou od LT. Mezi předtransplantační prediktory steatózy patřily alkoholická cirhóza a vysoké BMI, naopak zvýšená hodnota alkalické fosfatázy a iniciální mykofenolát mofetil měly protektivní účinek. Mezi potransplantační prediktory steatózy patřily BMI, sérové triglyceridy, konzumace alkoholu a přítomnost diabetes mellitus 2.typu, zatímco vyšší hladina sérového kreatininu měla protektivní účinek. Přítomnost významné steatózy/steatohepatitidy po LT nebyla doprovázena vyšším stupněm fibrózy. Výskyt steatózy byl srovnatelný u funkčních a selhaných štěpů. Přežívání pacientů s významnou steatózou a bez ní bylo srovnatelné, ale s patrným trendem k vyšší dlouhodobé mortalitě pacientů s významnou steatózou.

Při hodnocení významu genotypů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409 dárce a příjemce v patofyziologii steatózy po LT jsme zjistili, že pro zvýšený obsah jaterního tuku po LT mají nezávislý a aditivní vliv alely *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G dárce (jaterní exprese), vliv genotypů příjemce (mimojaterní exprese) jsme neprokázali. Účinky alel *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G dárce významně stoupají s vyšším BMI příjemce.

V následné prospektivní studii jsme potvrdili, že vznik potransplantační NAFLD i její progresse do NASH a fibrotizující formy souvisí s potransplantační inzulinovou rezistencí (IR), která má úzký vztah ke změnám BMI. Neprokázali jsme význam podávané imunosuprese na potransplantační IR.

Klíčová slova: Steatóza, NAFLD, NASH, transplantace jater, *PNPLA3*, *TM6SF2*, inzulinová rezistence, imunosuprese

Abstrakt

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) occurs frequently not only in the general population, but also in liver transplant (LT) recipients. The data about prevalence, evolution, causes and significance of steatosis in patients after LT are limited.

In a large retrospective study in LT recipients with histological evaluation of steatosis, we found high prevalence of steatosis (56,4 %) and steatohepatitis (10,4 %), the prevalence of steatosis increased after LT. Pretransplant predictors of steatosis included alcoholic cirrhosis and high BMI, whereas increased alkaline phosphatase and mycophenolate mofetil given initially were protective. Posttransplant predictors of steatosis included BMI, serum triglycerides, alcohol consumption and presence of type 2 diabetes mellitus, whereas increased serum creatinine was protective. Presence of significant steatosis/steatohepatitis was not associated with increased grade of fibrosis. There was no difference between the occurrence of steatosis in surviving and lost grafts. Survival of patients with/without significant steatosis was similar with a trend to higher long-term mortality of patients with significant steatosis.

In the evaluation of the impact of *TM6SF2* rs58542926 and *PNPLA3* rs738409 genotypes of the donor and recipient on pathophysiology of steatosis after LT, we found that *TM6SF2* c.499A and *PNPLA3* c.444G alleles of the donor (hepatic expression), but not of the recipient (extrahepatic expression) predicted increased liver fat content after LT and their effect was additive. The effect of the donor *TM6SF2* c.499A and *PNPLA3* c.444G alleles increased with higher BMI of the recipient.

In a subsequent prospective study, we confirmed that posttransplant NAFLD and its progression to NASH and fibrotic form is affected by posttransplant insulin resistance (IR), which has a close relationship to changes of BMI. We did not prove the effect of immunosuppression on posttransplant IR.

Key words: Steatosis, NAFLD, NASH, liver transplantation, PNPLA3, TM6SF2, insulin resistance, immunosuppression

Seznam zkratek

ACEI	inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu
AFLD	alkoholová tuková nemoc jater (alcoholic fatty liver disease)
ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alaninaminotransferáza
ApoB	apolipoprotein B
AST	aspartátaminotransferáza
ATG	antithymocytární globulin
ATGL	adipose triglyceride lipase
BMI	body mass index
CAP	controlled attenuation parameter
CCL2	chemokine ligand 2
CGI-58	comparative gene identification-58
CI	konfidenční interval
CNI	kalcineurinový inhibitor
CT	počítačová tomografie
DM	diabetes mellitus
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EASL	Evropská asociace pro studium jater (European Association for the Study of the Liver)
ECM	mezibuněčná hmota (extracelulární matrix)
ELTR	Evropský registr transplantací jater (European Liver Transplant Registry)
ER	endoplazmatické retikulum
ERLIN	ER lipid raft protein
FFA	volné mastné kyseliny (free fatty acids)
G/I ratio	poměr glukóza/inzulin
GCKR	glucokinase regulator
GGT	gama-glutamyltransferáza
Glu	kyselina glutamová
GLUT4	glukózový transportér 4
¹ H MRS	protonová magneticko-rezonanční spektroskopie
HbA _{1c}	glykovaný hemoglobin
HBsAg	hepatitis B surface antigen (australský antigen)
HBV	virová hepatitida B
HCC	hepatocelulární karcinom
HCV	virová hepatitida C
HDL	lipoproteiny o vysoké hustotě (high-density lipoprotein)
HOMA-IR	homeostatic model assessment inzulinové rezistence
HPC	jaterní progenitorové buňky (hepatic progenitor cells)
HSC	jaterní hvězdčovitě buňky (hepatic stellate cells)
HSD17B13	hydroxysteroid 17β-dehydrogenase
HVPG	jaterní žilní tlakový gradient (hepatic venous pressure gradient)
IL	interleukin

Ile	isoleucin
IQR	mezikvartilové rozpětí (interquartil range)
IR	inzulinová rezistence
IRGM	immunity related GTPase family M
IRS1, 2	substráty inzulinových receptorů 1, 2
IS	imunosuprese
LDL	lipoproteiny o nízké hustotě (low-density lipoprotein)
LT	transplantace jater (liver transplantation)
Lys	lysin
M	měsíc
MAFLD	tuková nemoc jater asociovaná s metabolickou dysfunkcí (metabolic dysfunction-associated fatty liver disease)
MBOAT7	membrane bound O-acyltransferase domain-containing 7
MELD	model for end-stage liver disease
Met	methionin
MMF	mykofenolát mofetil
MR	magnetická rezonance
MRI	MR zobrazení
mRNA	mediátorová ribonukleová kyselina
NA	nelze aplikovat
NAFL	nealkoholová steatóza (non-alcoholic fatty liver)
NAFLD	nealkoholová tuková choroba jater (non-alcoholic fatty liver disease)
NAS	NAFLD activity score
NASH	nealkoholová steatohepatitida (non-alcoholic steatohepatitis)
NF- κ B	nukleární faktor kappa B
NLR	NOD-like receptor
ns	statisticky nevýznamné (non-significant)
OGTT	orální glukózový toleranční test
OR	odds ratio
PNPLA3	patatin-like phospholipase domain-containing 3
PPAR- α	peroxisome proliferator-activated receptor α
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny (polyunsaturated fatty acids)
R	rok
RNA	ribonukleová kyselina
SD	směrodatná odchylka
SHH	ligand sonic hedgehog
SREBP-1c	sterol regulatory element-binding protein 1c
T2DM	diabetes mellitus 2. typu
TG	triglyceridy
TGF β	transformující růstový faktor beta (transforming growth factor beta)
TM6SF2	transmembrane 6 superfamily member 2
TNF- α	tumor necrosis faktor α
TLR	toll-like receptor

VLC-PUFA	polynenasycené mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem (very long-chain polyunsaturated fatty acid)
VLDL	lipoproteiny o velmi nízké hustotě (very low-density lipoprotein)

1. Úvod

Nealkoholová tuková choroba jater (NAFLD; non-alcoholic fatty liver disease) je charakterizovaná nadměrným hromaděním tuku v játrech (steatózou) spojeným s inzulínovou resistencí (IR) ¹. NAFLD je jedním z nejčastějších jaterních onemocnění západních zemí s narůstající prevalencí, což značně komplikuje dárcovský program transplantací jater (LT, liver transplantation) vzhledem k významně zvýšenému riziku ztráty štěpu postiženého středně těžkou až těžkou steatózou ². NAFLD je navíc spojena s vyšší celkovou a kardiovaskulární mortalitou a morbiditou, u části pacientů pak progresivní forma onemocnění označovaná jako nealkoholová steatohepatitida (NASH; non-alcoholic steatohepatitis) dospěje v důsledku progredující fibrózy až do stádia nevratného selhání jater vyžadujícího transplantační léčbu ³. O narůstajícím významu onemocnění svědčí dramatický nárůst procenta indikací k LT pro NASH cirhózu v posledních letech ⁴. O výskytu, příčinách, vývoji a významu NAFLD po LT, ať již jako rekurentní formy či onemocnění *de novo*, existuje jen malé množství dat.

Definice steatózy

Steatózu lze definovat několika různými způsoby. Pro vědecké účely je steatóza definována jako obsah tuku vyšší než 5 % hmotnosti jater (> 50 mg tuku/g jaterní tkáň) ⁵. Definice je založena na obsahu neutrálních tuků stanovených v tkáňovém extraktu Folchovým činidlem, extrakce se provádí z předem zváženého množství vlhké tkáň ⁶.

Obsah jaterního tuku lze přesně změřit i neinvazivně s pomocí protonové magneticko-rezonanční spektroskopie (¹H MRS). Obsah jaterního tuku se hodnotí na základě poměru signálu z tuku (f) vztaženého na součet signálů z tuku (f) a vody (w) [$f/(f+w)$], výsledek se udává v procentech ⁷. Mezi koncentrací tuku měřenou ¹H MRS a absolutní koncentrací tuku v játrech existuje významná korelace ⁸. Na základě distribuce obsahu jaterního tuku stanoveného ¹H MRS ve skupině neobézních pacientů bez diabetu a bez významné konzumace alkoholu byl stanoven horní limit normy jako 5,56 % (odpovídá množství tuku 55,6 mg/g) ⁷.

Přítomnost a stupeň steatózy lze hodnotit pomocí jaterní biopsie. Histologicky je steatóza definována jako přítomnost tukových kapének ve ≥ 5 % hepatocytů (při barvení hematoxylin-eosin) a klasifikuje se dle procenta postižených hepatocytů jako stupeň "0" u < 5 % postižených hepatocytů, stupeň "1" u 5-33 % hepatocytů, stupeň "2" u 33,1-66 % hepatocytů a stupeň "3" u > 66 % hepatocytů ⁹. Řada prací popisuje korelaci mezi histologickým a MR hodnocením jaterní steatózy ^{10 11}. Histologická diagnostika může oproti ¹H MRS množství jaterního tuku podhodnocovat pravděpodobně z důvodu nedostatečné detekce nejmenších tukových kapének ¹².

V klinických doporučeních Evropské asociace pro studium jater (EASL; European Association for the Study of the Liver) z roku 2016 je steatóza definována jako přítomnost tuku ve > 5 % hepatocytů při histologickém vyšetření jater nebo jako tuková frakce protonové denzity (odpovídá hrubému odhadu objemové frakce tukové hmoty v játrech) > 5,6 % hodnocené ¹H MRS nebo kvantitativním selektivním MR zobrazením (MRI) tuk/voda ¹.

NAFLD

NAFLD zahrnuje dva patologicky odlišné stavy s rozdílnou prognózou: nealkoholovou steatózu (NAFL; non-alcoholic fatty liver) a NASH ¹. NAFL je definována jako přítomnost jaterní steatózy bez průkazu hepatocelulárního poškození v podobě balónové degenerace

hepatocytů. NASH je definována jako přítomnost jaterní steatózy a zánětu se současným poškozením hepatocytů (balónovou degenerací), které mohou, ale nemusí být doprovázeny fibrózou. NASH zahrnuje široké spektrum jednotlivých stádií onemocnění včetně fibrózy, cirhózy a hepatocelulárního karcinomu (HCC) ^{1 13}.

Ke stanovení diagnózy NAFLD jakožto primárního onemocnění je nutné vyloučit sekundární příčiny steatózy/steatohepatitidy a významnou konzumaci alkoholu (≥ 30 g/den u mužů a ≥ 20 g/den u žen). Mezi sekundární příčiny steatózy patří alkoholová tuková nemoc jater (AFLD; alcoholic fatty liver disease), polékové poškození, steatóza asociovaná s virovou hepatitidou C (HCV) genotypu 3, některá jiná jaterní onemocnění (např. hemochromatóza, Wilsonova nemoc), hypotyreóza, vliv parenterální výživy a vrozené poruchy metabolismu. Primární i sekundární příčiny steatózy se mohou vyskytovat současně. Ke stanovení diagnózy NASH je nutná biopsie jater ¹. NAFLD je nejčastější příčinou náhodného nálezu zvýšených jaterních enzymů, u většiny pacientů s NAFLD však bývají hladiny aminotransferáz normální. NAFLD je většinou asymptomatická ¹⁴.

V současné době již řada autorů používá novou terminologii, ve které je pojem NAFLD nahrazen pojmem MAFLD (metabolic dysfunction-associated fatty liver disease; tuková nemoc jater asociovaná s metabolickou dysfunkcí). V roce 2020 navrhla mezinárodní skupina odborníků novou definici MAFLD, která je jednoduchá, úplná a nezávislá na ostatních jaterních chorobách. Tato definice je založena na přítomnosti jaterní steatózy, a navíc jednoho z následujících třech kritérií: nadváha/obezita, diabetes mellitus 2. typu (T2DM) nebo známky metabolické dysregulace (alespoň 2 z následujících kritérií: zvýšený obvod pasu, hypertenze, hypertriglyceridémie, snížený high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, prediabetes, Homeostatic Model Assessment inzulinové rezistence (HOMA-IR) $\geq 2,5$, zvýšený high sensitivity C-reaktivní protein). Tato kritéria jsou nezávislá na množství konzumovaného alkoholu ¹⁵.

V Evropském registru transplantací jater (ELTR; European Liver Transplant Registry) je kryptogenní cirhóza u pacientů s BMI ≥ 30 kg/m² označována jako pravděpodobná NASH cirhóza, zatímco pojem kryptogenní cirhóza je ponechán pro pacienty s BMI < 30 kg/m² ⁴.

1.1. Prevalence NAFLD v obecné populaci a u pacientů po transplantaci jater (LT)

Obecná populace

NAFLD je nejběžnějším jaterním onemocněním západních zemí ¹⁶. Dle rozsáhlé meta-analýzy z roku 2016 je celosvětová prevalence NAFLD 25,2 %. U pacientů s NAFLD indikovaných k biopsii jater pro zvýšené jaterní testy nebo klinické známky jaterního onemocnění je prevalence NASH 59,1 % ¹⁷. Globální prevalence NASH se odhaduje na 3-6 % ¹⁴.

Prevalence NAFLD narůstá. Dle studie z USA, která diagnózu NAFLD definovala jako zvýšenou aktivitu aminotransferáz bez zjištěné příčiny, vzrostla prevalence NAFLD v období 1988 až 2008 z 5,5 % na 11,0 % a její podíl z celkového počtu jaterních chorob vzrostl z 46,8 % na 75,1 %. Současně s nárůstem prevalence NAFLD byl pozorován nárůst abdominální obezity, IR, T2DM a hypertenze ¹⁸.

Pacienti po LT

U pacientů po LT indikovaných pro NASH může dojít k rekurenci NAFLD^{19 20}. Pojem rekurence NAFLD se někdy používá i u pacientů po LT pro kryptogenní cirhózu, jejíž častou příčinou je nepoznaný NASH^{21 22}. NAFLD u pacientů po LT pro jiné diagnózy se označuje jako NAFLD *de novo*^{19 20}.

Rekurence NAFLD po LT

K rekurenci NAFLD po LT dochází u 31 % až 88 % pacientů^{23 24 25 26}. Ve 2 studiích, které zahrnuly pouze pacienty po LT pro NASH, byla popsána 70 – 88 % rekurence NAFLD a 25 % rekurence NASH^{23 24}. Dvě další studie, které zahrnuly pacienty po LT pro NASH i pro kryptogenní cirhózu, udávaly rekurenci NAFLD 31 – 39 %, přičemž rekurence NAFLD byla dvakrát častější u NASH než u kryptogenní cirhózy^{25 26}. Prevalence rekurentní NAFLD narůstá v čase a dosahuje až 32,9 % 10 let po LT²⁵, jiná práce udává až 100 % 5 let po LT²⁷.

NAFLD *de novo* po LT

Podle recentní meta-analýzy zahrnující celkem 12 studií s více než 2000 pacienty je prevalence NAFLD *de novo* po LT 26 % (14,7-52 %) a NASH *de novo* 2 % (0,96-32 %). Do kategorie NAFLD *de novo* byli zahrnuti i pacienti indikovaní pro kryptogenní cirhózu. Prevalence NAFLD *de novo* se lišila v závislosti na indikaci k LT (37 % u alkoholické cirhózy, 35 % u kryptogenní cirhózy, 22 % u virové hepatitidy B (HBV), 19 % u HCV a 7 % u cholestatických chorob)²⁸.

1.2. Získané příčiny NAFLD v obecné populaci a u pacientů po LT

1.2.1. Obezita

Obecná populace

Klíčovou roli v rozvoji NAFLD a jaterní IR má obezita, čemuž nasvědčuje rychlý pokles obsahu jaterního tuku a vymizení jaterní IR po redukci tělesné hmotnosti²⁹. U pacientů s BMI ≥ 35 kg/m² dosahuje prevalence NAFLD až 91 % a NASH 37 %³⁰. Pokles hmotnosti ≥ 10 % navozený režimovými opatřeními vede po 1 roce k vymizení NASH u 90 % pacientů a regresi fibrózy u 45 % pacientů³¹. Podobně i bariatrický chirurgický výkon vede po 1 roce k vymizení NASH u 85 % morbidně obézních pacientů a redukci fibrózy u 34 % pacientů³², přičemž 5 let po výkonu fibróza regreduje dokonce u 70,2 % pacientů³³.

Zvláštní pozornost je věnována viscerální tukové tkáni (tuk přítomný v okolí břišních orgánů v mesenteriu a omentu), jejíž množství těsně koreluje s množstvím jaterního tuku. Viscerální adipocyty mají oproti subkutánní tukové tkáni vyšší míru lipolýzy a uvolňování velkého množství volných mastných kyselin (FFA; free fatty acids) do portální žíly přispívá ke vzniku jaterní steatózy (tzv. portální teorie)^{14 34}. Viscerální tuk může rovněž uvolňovat větší množství zánětlivých cytokinů než subkutánní tuková tkáň³⁵. U pacientů s podobným množstvím jaterního tuku však odlišné množství viscerálního tuku nemělo vliv na jaterní ani periferní IR³⁶ a chirurgické odstranění omentálního tuku nevedlo ke zlepšení IR³⁷. Kausalita vlivu viscerálního tuku na jaterní steatózu je tak kontroverzní¹⁴.

Pacienti po LT

Obezita je jedním z rizikových faktorů NAFLD i po LT^{19 38 39}. Nadváha/obezita se může týkat až 50-67 % všech příjemců LT^{40 41}. K nárůstu hmotnosti po LT přispívá obnovená

funkce jater, návrat chuti k jídlu, celkové zlepšení fyzického a psychického stavu a sedavý způsob života⁴⁰. Vliv imunosupresivní léčby na nárůst hmotnost po LT není dle dostupné literatury jednoznačný. V randomizované studii vedla standardní dávka takrolimu k vyššímu váhovému přírůstku než redukováná dávka takrolimu v kombinaci s everolimem⁴². Jiné práce však nenalezly vliv jednotlivých imunosupresiv na nárůst hmotnosti^{40 43}. V jedné práci měli pacienti léčení kortikoidy 6 měsíců po LT vyšší váhový přírůstek než pacienti, kteří je nedostávali⁴⁰. Plocha abdominálního viscerálního tuku na CT (průměrná hodnota ploch měřených na úrovních Th12 až L4) byla spojena s vyšší mortalitou po LT⁴⁴.

1.2.2. Vysoký příjem jednoduchých cukrů a nasycených tuků

Obecná populace

Strava s velkým množstvím jednoduchých cukrů zvyšuje obsah jaterního tuku^{45 46 47 48}. Důležitou roli v patogenezi NAFLD má monosacharid fruktóza, která napodobuje toxický účinek alkoholu. Fruktóza a ethanol jsou si evolučně a biochemicky podobné a ethanol je produktem fermentace fruktózy⁴⁹. Konzumace fruktózy byla spojena i s vyšším stupněm fibrózy u NASH⁵⁰. Podobně i dieta s velkým množstvím nasycených tuků zvyšuje obsah jaterního tuku^{47 51}. Složení makroživin přebytečné energie ovlivňuje mechanismus vzniku steatózy; jednoduché cukry zvyšují *de novo* lipogenezi a nasycené tuky zvyšují lipolýzu. Nenasycené tuky naopak lipolýzu snižují⁴⁷.

Pacienti po LT

O stravovacích zvyklostech pacientů po LT není dostatek dat⁵². Ve studii z Austrálie odpovídala strava pacientů po LT dietě západního stylu s vysokým množstvím nasycených tuků⁵³.

1.2.3. Nedostatek fyzické aktivity

Obecná populace

Sedavý způsob života a pokles fyzické aktivity jsou nezávislými rizikovými faktory NAFLD⁵⁴. Pravidelné cvičení snižuje riziko vzniku NAFLD a je spojeno s nižší aktivitou jaterních enzymů u pacientů s NAFLD⁵⁵. Fyzická aktivita zvyšuje svalovou inzulínovou senzitivitu⁵⁶, snižuje obsah jaterního tuku^{57 58} a aktivitu jaterních enzymů⁵⁹ nezávisle na efektu na tělesnou hmotnost. Lepší fyzická kondice u pacientů s NAFLD zvyšuje efekt režimových opatření na regresi steatózy⁵⁸.

Pacienti po LT

Pacienti po LT jsou méně fyzicky aktivní než obecná populace⁶⁰. Adekvátní množství fyzické aktivity bylo prokázáno u méně než 60 % pacientů po orgánové transplantaci⁶¹.

1.3. Metabolické rizikové faktory NAFLD v obecné populaci a u pacientů po LT

1.3.1. Inzulinová rezistence

Obecná populace

NAFLD je těsně spojena s IR v játrech, svalech i tukové tkáni. IR je patologický stav charakterizovaný nedostatečnou odpovědí tkání na působení inzulínu. IR je společným charakteristickým znakem obezity, NAFLD, T2DM, metabolického syndromu a mnoha kardiovaskulárních chorob^{62 63}.

Játra hrají centrální roli v regulaci glukózové homeostázy. Po příjmu potravy extrahují glukózu z portální žíly a syntetizují glykogen a triglyceridy (TG) a v průběhu hladovění do krevního oběhu uvolňují glukózu pomocí glykogenolýzy nebo glukoneogeneze. Inzulin v játrech stimuluje vychytávání glukózy, hromadění glykogenu a aktivaci lipogeneze a naopak inhibuje glykogenolýzu a glukoneogenezi. Jaterní inzulinová signalizace je zprostředkována substráty inzulinových receptorů (IRS) 1 a IRS2. Exprese IRS2 je potlačena inzulinem a zvyšuje se při lačnění, exprese IRS1 není naopak inzulinem a příjmem potravy ovlivněna.

Jaterní IR se vyznačuje sníženou schopností inzulínu potlačit glukoneogenezi, zatímco jeho účinek na lipogenezi je zachován nebo dokonce zvýšen, což se označuje jako selektivní IR. Vysvětlením je odlišná exprese IRS1 a IRS2 v různých jaterních zónách. Exprese IRS2, který je v periportální a perivenózní zóně, je snížena hyperinzulinémií, zatímco exprese IRS1 lokalizovaného zejména v perivenózní zóně, zůstává převážně neovlivněna. Při hyperinzulinémií tak dochází k poklesu inzulinové signalizace v periportální zóně, což je primární místo glukoneogeneze, a naopak zvýšení signalizace v perivenózní zóně, která je primárním místem lipogeneze⁶⁴. Nefunkční inhibice glukoneogeneze vede k hyperglykémii, která dále podporuje *de novo* lipogenezi a stimuluje sekreci inzulínu s následnou hyperinzulinémií. Lačná hyperglykémie a hyperinzulinémie jsou tak způsobeny jaterní IR⁶⁵. Hromadění jaterních TG je doprovázeno zvýšenou tvorbou lipoproteinů o velmi nízké hustotě (VLDL; very low-density lipoprotein)^{1 14}.

Pacienti s NAFLD vykazují IR i v tukové tkáni a kosterním svalstvu, tzv. periferní IR. Nedostatečný účinek inzulínu v tukové tkáni vede ke zvýšení lipolýzy a nabídce FFA v játrech pro syntézu TG. V důsledku IR v kosterním svalstvu je sníženo vychytávání glukózy⁶⁵.

NAFLD je následkem IR, nikoliv její příčinou. Někteří pacienti s mutací v genu patatin-like phospholipase domain-containing 3 (*PNPLA3*) mají sice jaterní steatózu, ale jejich jaterní a periferní inzulinová senzitivita je srovnatelná s osobami bez mutace a bez NAFLD⁶². Podobně studie u myši prokázala, že blokáda sekrece VLDL způsobuje jaterní steatózu, ale neovlivňuje inzulinovou senzitivitu⁶⁶.

IR se podílí na patogenezi i dalších jaterních chorob. U pacientů s cirhózou různé etiologie byla popsána souvislost IR se zvýšeným jaterním žilním tlakovým gradientem (HVPG; hepatic venous pressure gradient)^{67 68}, s přítomností jícnových varixů^{67 69 70} a jejich krvácením⁶⁷.

Hodnocení inzulinové sensitivity/resistence má význam pro epidemiologické studie i v klinické praxi. Přímé metody měření inzulinové sensitivity *in vivo* (hyperinzulinemický euglykemický glukózový clamp, inzulinový supresní test) hodnotí spotřebu glukózy zprostředkovanou inzulinem za ustálených podmínek, jsou však nákladné a časově i

organizačně náročné ⁶³. K posouzení IR lze v běžné klinické praxi použít index HOMA-IR, který vychází z hodnot lačné glykémie a inzulinémie ⁷¹. Hodnota HOMA-IR definující IR není ustálená ¹, nejčastěji se používá $HOMA-IR \geq 2,5-3,0$ ^{18 72}. HOMA-IR není přesný u osob s těžce sníženou nebo chybějící funkcí β -buněk ⁶³.

Pacienti po LT

Údaje o prevalenci a vývoji IR u pacientů po LT jsou velmi omezené. V prvních měsících po LT dochází ke zlepšení inzulinové senzitivity ^{73 74 75}, další vývoj IR po LT nebyl popsán. Vysoká prevalence potransplantačního diabetes mellitus (DM) ⁷⁶ a NAFLD ²⁸ svědčí pro častou přítomnost IR po LT. Recentní studie pacientů po LT prokázala centrální význam IR a alterace adipokinů v patogenezi steatózy štěpu po LT ⁷⁷.

1.3.2. Metabolický syndrom

Obecná populace

Pojem metabolický syndrom, známý rovněž jako syndrom IR, je používán pro skupinu metabolických abnormalit, které jsou buď příčinou nebo následkem IR a vyskytují se současně zejména u obézních pacientů se sedavým způsobem života ¹⁴. Metabolický syndrom lze definovat několika různými způsoby, nejčastěji používanou definicí je přítomnost alespoň tří z pěti následujících znaků spojených s IR: zvýšená lačná glykémie ($\geq 5,6$ mmol/l) nebo léčený T2DM, hypertriglyceridémie ($> 1,7$ mmol/l), nízký HDL cholesterol ($< 1,0$ mmol/l u mužů, $< 1,3$ mmol/l u žen), zvýšený obvod pasu (≥ 94 cm u mužů, ≥ 80 cm u žen), hypertenze (TK $\geq 130/85$ mmHg nebo léčená hypertenze) ¹.

Metabolický syndrom se týká asi 25 % celosvětové populace ⁷⁸ a 42,5 %, resp. 70,6 % pacientů s NAFLD a NASH ¹⁷. Všechny složky metabolického syndromu korelují s obsahem jaterního tuku nezávisle na BMI ¹. NAFLD a metabolický syndrom se v mnoha ohledech překrývají, oba predikují T2DM a kardiovaskulární onemocnění ¹⁴.

Pacienti po LT

Metabolický syndrom se týká 40-60 % pacientů po LT ^{79 80}. Často (33-49 %) se vyvíjí *de novo* v prvních dvou letech po LT ^{81 82}, což souvisí mimo jiné s nárůstem hmotnosti po LT ⁷⁹.

1.3.3. Diabetes mellitus 2.typu

Obecná populace

U pacientů s T2DM je vysoký (50-70 %) výskyt NAFLD ^{83 84} nezávisle na BMI ^{85 86}. NAFLD je častější i u pacientů se zvýšeným rizikem diabetu definovaným jako glykovaný hemoglobin 38,8-46,4 mmol/mol, zvýšená lačná glykémie (5,6-6,9 mmol/l) a/nebo porucha glukózové tolerance (glykémie 2 hod po orálním glukózovém tolerančním testu (OGTT) 7,8-11,0 mmol/l) ¹. T2DM je nezávislým faktorem NASH a pokročilé fibrózy ^{87 88 89}.

Pacienti po LT

DM je rizikovým faktorem NAFLD i po LT^{19 38}, týká se až 30 % příjemců LT^{76 90}. Na vzniku DM po LT se významně podílí léčba kalcineurinovými inhibitory (CNI) cyklosporinu a takrolimu, které způsobují poruchu sekrece inzulinu⁷⁶.

1.3.4. Dyslipidémie

Obecná populace

U 69,2 % pacientů s NAFLD je přítomna dyslipidémie¹⁷. U NAFLD selhává v důsledku IR schopnost inzulinu potlačit periferní lipolýzu a zvyšuje se jaterní tvorba VLDL částic bohatých na TG, což je hlavním příčinou zvýšených sérových hladin TG u pacientů s NAFLD. Vzestup VLDL vede k poklesu HDL cholesterolu a rovněž k tvorbě malých, denzních lipoproteinů o nízké hustotě (LDL; low-density lipoprotein), které jsou vysoce aterogenní^{14 91 92}. Hromadění jaterních lipidů není samo o sobě příčinou dyslipidémie, což vyplývá ze studie rizikových alel NAFLD⁹³.

Pacienti po LT

Hyperlipidémie je jedním z rizikových faktorů NAFLD i po LT^{19 38}. U 16-43 % příjemců se vyskytuje hypercholesterolémie a asi u 40 % pacientů po LT je přítomna hypertriglyceridémie⁹⁴. Riziko hyperlipidémie je zvýšeno léčbou cyklosporinem, takrolimem⁹⁵ a sirolimem⁹⁶.

1.4. Genetické rizikové faktory NAFLD v obecné populaci a u pacientů po LT

Na rozvoji NAFLD se významně podílejí i genetické faktory, čemuž nasvědčují výsledky příbuzenských studií^{97 98}, studií dvojčat^{99 100} a mezzietnické rozdíly prevalence NAFLD¹⁰¹. Vysoké riziko NAFLD je u sourozenců (59 %) a rodičů (78 %) dětí s NAFLD⁹⁷. Ve studii 60 párů dvojčat korelovaly obsah jaterního tuku, resp. hodnoty jaterní elasticity hodnocené pomocí MR zobrazení, resp. MR elastografie u jednovaječných dvojčat, ale ne u dvouvaječných dvojčat⁹⁹. Odlišná prevalence NAFLD u jednotlivých etnik (45 % u Hispánců, 33 % u bělochů, 24 % u černochoů) není způsobena pouze rozdíly v prevalenci obezity a IR¹⁰¹. Přibližně polovina variability v obsahu jaterního tuku může být vysvětlena dědičnými faktory¹⁰².

1.4.1. PNPLA3

Obecná populace

Hlavním genetickým faktorem rozvoje NAFLD je polymorfismus v genu *PNPLA3*¹⁰². Genomová asociační studie z roku 2008 našla missense variantu *PNPLA3* rs738409 c.444 C>G, p.Ile148Met významně spojenou se zvýšeným obsahem jaterního tuku a aktivitou sérové alaninaminotransferázy (ALT)¹⁰³. Mezzietnické rozdíly výskytu alely *PNPLA3* c.444G (0,49 hispánci, 0,23 běloši, 0,17 černoši) odpovídaly rozdílné prevalenci NAFLD u jednotlivých etnik. Vliv varianty *PNPLA3* c.444G na obsah tuku v játrech nesouvisel s BMI, IR nebo sérovými hladinami TG a cholesterolu¹⁰³.

PNPLA3 kóduje protein o velikosti 481 aminokyselin, který patří do rodiny patatin-like fosfolipáz¹⁰⁴. U lidí se *PNPLA3* nejvíce exprimuje v hepatocytech, v jaterních hvězdčovitých buňkách (HSC; hepatic stellate cells) a dále i v tukové tkáni a kůži. Hladiny *PNPLA3* mRNA nalačno jsou nízké a při sacharidové dietě vzrostou zhruba 90ti-násobně vlivem transkripčního faktoru sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP-1c). SREBP-1c vede k hromadění *PNPLA3* i nepřímo zvýšením syntézy mastných kyselin, které prodlužují biologický poločas *PNPLA3*¹⁰⁵.

Zhruba 90 % *PNPLA3* (wild type i varianta p.Ile148Met) se váže na membrány a tukové kapénky. Rekombinantní wild type *PNPLA3* hydrolyzuje emulzifikované TG *in vitro*, substituce p.Ile148Met tuto aktivitu ruší¹⁰⁶. Ztráta *PNPLA3* u myši (*Pnpla3*^{-/-}) nemá vliv na tělesnou hmotnost, množství tukové tkáně, akumulaci jaterního tuku, hladinu sérových TG, aktivitu aminotransferáz a rozvoj IR¹⁰⁷.

Nadměrná jaterní exprese lidské varianty *PNPLA3* c.444G u transgenních myši zvyšuje obsah jaterního tuku, tento účinek nebyl pozorován u wild type *PNPLA3* nebo u nadměrné exprese mutované varianty (*PNPLA3* c.444G) v tukové tkáni¹⁰⁸. U *Pnpla3*^{148Met/Met} knockin myši vede vysokosacharidová dieta k 2- až 3-násobnému nárůstu obsahu jaterního tuku doprovázeného vzestupem množství (40x) *PNPLA3* na povrchu tukových kapének, hladiny jaterní *PNPLA3* mRNA se však nemění¹⁰⁹.

Recentní studie u *Pnpla3*^{148Met/Met} knockin myši prokázala, že zatímco wild type *PNPLA3* je účinně ubiquitylována a rychle odstraněna proteazomální degradací, varianta p.Ile148Met se ubiquitylací a proteazomální degradací vyhýbá, což vede ke hromadění *PNPLA3* na povrchu tukových kapének a sníženému uvolňování TG z tukových kapének¹¹⁰. Hromadící se mutovaná *PNPLA3* nadměrně vyvazuje proteinový kofaktor CGI-58 (comparative gene identification-58), který je společný pro *PNPLA3* a homologní *PNPLA2* (synonymum ATGL; adipose triglyceride lipase). Nedostatek CGI-58 snižuje aktivitu *PNPLA2*, která je hlavní hydrolázou TG nejen v tukové tkáni, ale i v hepatocytech¹¹¹.

Varianta *PNPLA3* c.444G nemá vliv na syntézu TG, oxidaci mastných kyselin nebo sekreci VLDL-TG. Varianta *PNPLA3* c.444G není čistě ztrátovou mutací, k rozvoji steatózy je nutná exprese *PNPLA3* c.444G¹¹⁰.

Fyziologická úloha *PNPLA3* zřejmě spočívá v transferu polynenasycených mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem (VLC-PUFA; very long-chain polyunsaturated fatty acid) v tukových kapénkách z TG do fosfolipidů záměnou za nasycenou mastnou kyselinu z fosfolipidů. Díky aktivitě *PNPLA3* jsou tak do energetického metabolismu přednostně směřovány nasycené mastné kyseliny, zatímco nenasycené mastné kyseliny jsou znovu využity ve fosfolipidech. U varianty *PNPLA3* c.444G je tato aktivita zvýšená, při deficitu *PNPLA3* naopak zůstává obsah nenasycených mastných kyselin v jaterních TG i ve VLDL zvýšený. Tato úloha *PNPLA3* nemá přímý vliv na rozvoj NAFLD asociované s *PNPLA3*¹¹².

PNPLA3 je exprimována i v lidských HSC, kde hydrolyzuje retinylpalmitát na retinol a palmitovou kyselinu, u varianty *PNPLA3* c.444G je tato aktivita významně snížena¹¹³. *PNPLA3* má úlohu v aktivaci HSC a přítomnost varianty *PNPLA3* c.444G zvyšuje zánětlivý a fibrogenní fenotyp HSC, což zvyšuje riziko rozvoje fibrózy a další progresu jaterního onemocnění¹¹⁴. Silencing (umlčení) *Pnpla3* pomocí antisense oligonukleotidů vedlo u *Pnpla3* c.444G knock-in myši ke zlepšení všech znaků NAFLD včetně fibrózy¹¹⁵.

V kohortách pacientů s histologicky potvrzenou NAFLD byl prokázán vliv alely *PNPLA3* c.444G na rozvoj steatózy^{116 117 118 119 120}, NASH^{116 117 118 119 120 121} a fibrózy^{117 118 119 120 121}. Tato varianta neměla souvislost s IR^{103 122}, BMI, hladinou TG^{103 119}, HDL a LDL cholesterolu nebo přítomností DM¹¹⁹. Metaanalýza 24 studií s celkem 9915 pacienty z roku 2014 potvrdila, že alela *PNPLA3* c.444G je spojena s pokročilou fibrózou nejen u NAFLD, ale i u dalších jaterních chorob (AFLD, HCV)¹²³.

U pacientů s NAFLD zvyšovala varianta *PNPLA3* c.444G riziko HCC, které u GG homozygotů vzrostlo 5-krát oproti CC homozygotům¹²⁴. V metaanalýze z roku 2014 bylo nosičství alely *PNPLA3* c.444G spojeno se zvýšeným rizikem HCC u pacientů s NASH nebo alkoholickou cirhózou¹²³. Recentní studie popsala zvýšenou mortalitu pacientů s genotypem *PNPLA3* rs738409 GG v obecné populaci a u pacientů s NAFLD¹²⁵.

Pacienti po LT

U příjemců jaterního štěpu je možné studovat vliv genotypu *PNPLA3* rs738409 dárce (jaterní expresi) a příjemce (mimojaterní expresi). Vliv genotypů *PNPLA3* rs738409 dárce a příjemce na obsah tuku v transplantovaných játrech není jednoznačný^{126 127 128}. Dvě studie popsaly zvýšené riziko steatózy štěpu po LT u alely *PNPLA3* c.444G příjemce^{126 127}, vliv genotypu dárce nebyl prokázán¹²⁶ nebo nebyl hodnocen¹²⁷. Naproti tomu studie pacientů po LT pro HCV prokázala, že rozvoj potransplantační steatózy/steatohepatitidy je ovlivněn genotypem *PNPLA3* rs738409 dárce, zatímco vliv genotypu příjemce nebyl prokázán¹²⁸. Recentní menší studie u pacientů po LT neprokázala vliv genotypu *PNPLA3* rs738409 dárce ani příjemce na rekurenci NAFLD 1 rok po LT¹²⁹.

1.4.2. TM6SF2

Obecná populace

Další významný genetický faktor vzniku NAFLD byl popsán v rozsáhlé exomové asoiační studii z roku 2014¹³⁰, ve které byly nalezeny 3 varianty spojené se zvýšeným obsahem jaterního tuku - dvě varianty v *PNPLA3* a dále varianta transmembrane 6 superfamily member 2 (*TM6SF2*) rs58542926 c.499 G>A, p.Glu167Lys. Varianta *TM6SF2* c.499A byla dále spojena s vyšší aktivitou ALT a nižšími sérovými hladinami LDL cholesterolu, TG a alkalické fosfatázy (ALP). Účinky varianty *TM6SF2* c.499A nezávisely na BMI, HOMA-IR nebo genotypu *PNPLA3* rs738409. Varianta *TM6SF2* c.499A byla častější u bělochů (7,2 %) než u hispánců (4,7 %) nebo černochů (3,4 %)¹³⁰.

TM6SF2 kóduje protein o velikosti 351 aminokyselin s 7-10 transmembránovými doménami, který je lokalizovaný v endoplasmatickém retikulu (ER) a v ER-Golgiho intermediárním kompartmentu, ale není přítomen v tukových kapénkách¹³¹. U lidí se *TM6SF2* exprimuje převážně v tenkém střevě, játrech a ledvinách¹³⁰.

V kultuře hepatocytů produkuje varianta *TM6SF2* c.499A o 50 % méně proteinu než wild type *TM6SF2*¹³⁰. *Tm6sf2* knockout u myší vede k poklesu sekrece VLDL-TG, přičemž sekrece jaterního apolipoproteinu B (ApoB) je zachovalá, což svědčí pro význam *TM6SF2* při ukládání TG do VLDL. Při absenci *TM6SF2* se lipidy akumuluji v tukových kapénkách, i když je *TM6SF2* lokalizován v ER a Golgiho komplexu. Akumulace TG v cytoplasmatických tukových kapénkách hepatocytů a sekrece VLDL-TG játry jsou úzce propojeny. Pokud příjem mastných kyselin převáží kapacitu mitochondriální oxidace a sekrece VLDL-TG, dochází

k akumulaci TG v tukových kapénkách. Při poklesu příjmu mastných kyselin obsah jaterních TG rychle klesá. Tukové kapénky hepatocytů tak fungují jako rychlý a přechodný rezervoár FFA s vysokým obratem TG v závislosti na aktuálních buněčných potřebách. Inaktivace *Tm6sf2* u myši neovlivnila postnatální vývoj, tělesnou hmotnost, množství tukové a netukové tkáně a hmotnost jater. Exprese TM6SF2 není ovlivněna příjmem potravy¹³².

Recentní studie prokázala, že se TM6SF2 s pomocí proteinů ERLIN (ER lipid raft protein) váže na ApoB a stabilizuje jej. Defektní stabilizace ApoB v důsledku deficitu TM6SF2 nebo mutace c.499A může vysvětlit narušenou lipidaci nebo sekreci lipoproteinových částic obsahujících ApoB s následnou akumulací tuku v játrech¹³³.

Překvapivě i zvýšená exprese *Tm6sf2* v játrech myši může rovněž způsobovat steatózu a snižovat sekreci jaterních TG. Zvýšená exprese *Tm6sf2* v lidských hepatocytech snižuje sekreci ApoB a vede k jeho akumulaci v ER. Buněčná hladina TM6SF2 je tak důležitým faktorem ovlivňujícím metabolismus VLDL¹³⁴. U NAFLD v důsledku varianty *TM6SF2* c.499A je zachovalá jaterní inzulinová senzitivita a není přítomna hypertriglyceridémie¹³⁵.

TM6SF2 má důležitou roli i ve střevní lipidové homeostáze. Deficit TM6SF2 narušuje metabolismus tenkého střeva v reakci na lipidy ze stravy a způsobuje hromadění lipidů v enterocytech a sníženou sekreci lipidů^{136 137}.

Chybění *Tm6sf2* v játrech myši je doprovázeno nejen steatózou, ale i zvýšeným stupněm fibrózy a zrychleným rozvojem HCC¹³⁸. Rovněž i u pacientů s NAFLD je varianta *TM6SF2* c.499A asociována s vyšším stupněm steatózy^{139 140 141 142}, nekroinflatorními změnami^{140 142 143} a pokročilou fibrózou/cirhózou^{139 140 143}. Vliv této varianty na vznik steatózy a progresi fibrózy byl prokázán i u HCV¹⁴⁴. Varianta *TM6SF2* c.499A je jedním z genetických faktorů, které v obecné populaci zvyšují riziko cirhózy a HCC¹⁴⁵.

Nosiči varianty *TM6SF2* c.499A jsou náchylnější k progresivní formě NASH, ale jsou chráněni proti kardiovaskulárním chorobám, jelikož u nich byla zaznamenána nižší hladina sérových lipidů, nižší riziko vzniku karotidových plátů a nižší incidence kardiovaskulárních příhod¹⁴⁰.

Pacienti po LT

Studie, která hodnotila vliv genotypu *TM6SF2* rs58542926 příjemce na rozvoj NAFLD *de novo* po LT diagnostikované sonograficky neprokázala efekt genotypu příjemce, hodnocení genotypu dárce nebylo k dispozici¹²⁷. Ani recentní menší studie u pacientů po LT neprokázala vliv genotypu *TM6SF2* rs58542926 příjemce na rekurenci NAFLD 1 rok po LT, nebyl pozorován ani vliv genotypu dárce¹²⁹.

1.4.3. Ostatní genetické faktory

S rozvojem NAFLD byla spojena i řada dalších genů, které ovlivňují inzulinovou senzitivitu a sacharidový nebo lipidový metabolismus, např. glucokinase regulator (*GCKR*), membrane bound *O*-acyltransferase domain-containing 7 (*MBOAT7*) a hydroxysteroid 17 β -dehydrogenase (*HSD17B13*)^{146 147}. Nedávno byla popsána i varianta v genu *IRGM* (immunity-related GTPase family M) spojeného s autofagií, která zvyšuje riziko NAFLD¹⁴⁸. Podrobný výčet dalších genetických faktorů přesahuje rámec této práce a je uveden v přehledech^{146 147}.

1.4.4. Interakce genů s vnějším prostředím a epigenetické faktory

Varianty *PNPLA3* c.444G a *TM6SF2* c.499A představují pouze mírné riziko rozvoje NAFLD u štíhlých osob, ale jsou hlavním rizikovým faktorem u osob s vyšším BMI. Adipozita může zvyšovat genetické riziko NAFLD různými metabolickými mechanismy např. změnou exprese rizikových alel. Exprese *PNPLA3* je přímo ovlivněna transkripčním faktorem SREBP-1c, který je regulován inzulinem¹⁴⁹. Genetické riziko varianty *PNPLA3* c.444G pro rozvoj steatózy stoupá s přítomností IR¹⁵⁰. Ke zvýšenému riziku NAFLD může přispět i interakce mezi geny a dietou^{149 151 152}. Na vzniku NAFLD se podílejí i epigenetické jevy (př. DNA metylace, modifikace histonů, micro-RNA), které ovlivňují genovou expresi na transkripční úrovni bez alterace sekvence DNA. Epigenetické změny zajišťují propojení mezi hostitelem a prostředím, jsou reverzibilní a ovlivnitelné, čímž se uplatňují v nových léčebných strategiích i jako neinvazivní biomarkery NAFLD¹⁵³.

1.5. Patogeneze nealkoholové steatohepatitidy (NASH)

NAFLD zahrnuje spektrum jevů od prostého hromadění lipidů v hepatocytech (NAFL) po poškození hepatocytů lipidy (lipotoxicita) s následnou nekroinflamatorní odpovědí (NASH). Různé lipidy mají odlišnou toxicitu a pacienti mají různou schopnost toxickým účinkům lipidů odolávat, takže NAFL nemusí vést ke vzniku NASH. NASH je spektrum regeneračních odpovědí, jejichž výsledkem může být buď obnova tkáně s vymizením nebo stabilizací NASH nebo progresivní jizvení, cirhóza a/nebo vznik jaterní malignity. Progrese NAFL do cirhózy nebo HCC je vzácná¹⁵⁴.

Steatóza

K vzniku jaterní steatózy dojde v případě, že import nebo syntéza tuku převáží nad exportem nebo degradací. Nejnapadnějším typem tuku ve steatotických játrech jsou triacylglyceroly¹⁵⁴. Hlavními zdroji lipidů u NAFLD jsou cirkulující FFA pocházející z lipolýzy tukové tkáně (59 %), *de novo* lipogeneze (26 %) a tuku pocházející ze stravy (15 %)¹⁵⁵. IR tukové tkáně vede ke zvýšené lipolýze a vstupu FFA do jater, hyperinzulinémie asociovaná s IR navyšuje *de novo* lipogenezi¹⁵⁶. FFA jsou oxidovány v mitochondriích a u NAFLD vlivem zvýšené nabídky i v peroxizomech pomocí β -oxidace a dále i v ER pomocí ω -oxidace, přičemž důležitou roli hraje transkripční faktor peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR- α)¹⁵⁷. Reesterifikací FFA vznikají TG, které mohou být vylučovány formou VLDL částic nebo uchovávány v hepatocytech v tukových kapénkách¹⁵⁴.

Ke vzniku NAFLD přispívá dysfunkční hypertrofická tuková tkáň¹⁵⁸. Pro tukovou tkáň obézních osob s NAFLD je typická hypoxie, zvýšená infiltrace makrofágy v okolí odumřelých adipocytů a zvýšená exprese chemokinů a prozánětlivých cytokinů. Zánětlivě změněná tuková tkáň je rezistentní k inzulinu, což vede ke zvýšené lipolýze a transportu FFA do jater. Lipolýza je hlavním zdrojem mastných kyselin pro syntézu intrahepatocelulárních TG nalačno¹⁴. U dysfunkční tukové tkáně se mění sekrece adipokinů (př. adiponektinu, leptinu). Adiponektin zvyšuje oxidaci FFA v játrech a zvyšuje využití glukózy, čímž inhibuje vznik jaterní steatózy¹⁵⁹. U NAFLD bývají hladiny adiponektinu sniženy¹⁶⁰. Nízká hladina adiponektinu nezávisle predikuje zvýšené riziko kardiovaskulárních příhod u pacientů po LT¹⁶¹. Leptin je uvolňován poměrně k množství tělesného tuku, působí na centrální nervový systém a vede ke snížení

příjmu potravy a zvýšení výdeje energie, což způsobuje pokles tělesné hmotnosti. Kromě anorexigenního účinku hraje leptin důležitou roli i v řadě fyziologických funkcí jater včetně metabolismu lipidů a glukózy. Leptin tlumí lipogenezi a aktivuje β -oxidaci mastných kyselin. Vysoké hladiny leptinu jsou však spojeny s prozánětlivými, fibrogenními a pravděpodobně i onkogenními účinky na játra¹⁶². U pacientů s NAFLD bývají hladiny leptinu zvýšené se současnou leptinovou rezistencí¹⁶³.

K patogenezi NAFLD přispívá i narušená normální střevní mikrobiota (dysbióza), která spolu s nevhodnou dietou ovlivňuje lumenální metabolismus složek stravy a zvyšuje produkci některých mastných kyselin s krátkým řetězcem, které jsou důležitým zdrojem energie pro játra a mají význam při lipogenezi a glukoneogenezi. Dysbióza může zvyšovat i střevní produkci ethanolu a přispívat tak k jaternímu poškození, a dále i způsobovat nedostatek cholinu, který je důležitý při syntéze VLDL. Nedostatek cholinu omezuje syntézu VLDL, což zvyšuje hromadění TG v játrech¹⁶⁴.

Poškození hepatocytů a apoptóza

Zvýšený zánik hepatocytů u NASH je hlavním faktorem, který jej odlišuje od NAFL¹⁵⁴. Lipotoxicita není způsobena TG¹⁶⁵, ale je vyvolána jinými lipidy jako např. FFA, diacylglyceroly, oxysteroly, cholesterolem nebo ceramidy. Při oxidaci FFA v mitochondriích a peroxisomech vznikají kyslíkové radikály, které jsou přímo toxické nebo mohou vést k vyčerpání antioxidačních rezerv. Dysfunkční mitochondrie nejsou schopny účinné oxidace FFA, které se následně hromadí, což dále zhoršuje tvorbu kyslíkových radikálů¹⁵⁴. U pacientů s NAFLD byly prokázány zvýšené markery oxidačního stresu v jaterních biopsiích i v periferní cirkulaci¹⁶⁶. Lipotoxicita způsobuje i dysfunkci ER, což vede k hromadění neposkládaných proteinů, které vyvolávají buněčnou reakci¹⁶⁷. Protrahovaný buněčný stres vede k poškození hepatocytů, které se projeví jako balónová degenerace, a následně k buněčné smrti apoptózou nebo nekrózou^{168 169}. U pacientů s NASH byla pozorována zvýšená míra apoptózy, která odpovídala tíži onemocnění¹⁷⁰. Kromě přímého cytotoxického účinku vede hromadění FFA ke zhoršení IR a k hyperinzulinémií, což dále zvyšuje akumulaci jaterních lipidů¹⁵⁴.

Zánět

Zánět je nutný k odstranění zbytků poškozené tkáně a k usnadnění lokálního nahromadění dalších buněk jako např. jaterních progenitorových buněk (HPC; hepatic progenitor cells) a myofibroblastů, které se účastní procesu regenerace¹⁵⁴. Zánět u NASH se histologicky manifestuje infiltrací zánětlivými buňkami (makrofágy, monocyty, neutrofilů a lymfocyty) a je zprostředkován řadou prozánětlivých cytokinů (TNF- α , Il6) a chemokinů (CCL2)¹⁵⁸. Klíčovou roli v transformaci steatózy do steatohepatitidy a jaterní fibrózy mají prozánětlivé cytokiny Il-1 α a Il-1 β ¹⁷¹. Centrální roli zánětu u NASH hrají Kupfferovy buňky a nerovnováha mezi jejich prozánětlivým M1 fenotypem a protizánětlivým M2 fenotypem¹⁷². Nasycené mastné kyseliny ve stravě způsobují M1 polarizaci Kupfferových buněk, zatímco n-3 polynenasycené mastné kyseliny (PUFA) vedou k M2 fenotypu. Hlavním transkripčním faktorem spojeným s M1 aktivací makrofágů je nukleární faktor kappa B (NF- κ B), zatímco s M2 polarizací je spojený PPAR- γ . Up-regulace PPAR- γ je schopna měnit M1 do M2 fenotypu¹⁷³. Důležitými mediátory aktivace Kupfferových buněk jsou jejich toll-like receptory (TLR) a

NOD-like receptory (NLR), které detekují nebezpečné signály pocházející ze střevních mikroorganismů a endogenní molekuly uvolněné z poškozených hepatocytů¹⁵⁸.

Fibróza

Fibróza je dynamický proces charakterizovaný hromaděním mezibuněčné hmoty (ECM; extracelulární matrix) následkem chronického jaterního poškození různé etiologie¹⁷⁴. Hlavní roli v rozvoji fibrózy hrají HSC, což jsou perisinusoidální buňky rozmístěné po celých játrech. Ve zdravých játrech se HSC podílejí na ukládání retinoidu, vasoregulaci a homeostáze ECM. Při jaterním poškození se klidové HSC aktivují v kontraktilní myofibroblasty, které zvyšují cévní rezistenci a fibrogenezi. Zvýšená cévní rezistence přispívá k portální hypertenzi¹⁷⁵. Aktivace HSC je komplexní proces, ve kterém hrají roli Kupfferovy buňky, hepatocyty, jaterní sinusoidální endoteliální buňky i mnohé další zánětlivé buňky¹⁷⁴. Důležitou roli v aktivaci HSC hraje hlavní profibrogenní cytokin TGFβ (transforming growth factor beta)¹⁷⁶. Na rozvoji jaterní fibrózy se podílejí i HPC, což jsou kmenové, rezervní buňky, které se aktivují v případě trvalého poškození hepatocytů a mohou se diferencovat ve zralé hepatocyty a cholangiocyty¹⁷⁷. U pacientů s NASH dochází k expanzi HPC a následné periportální duktulární reakci, což může vést k progresivní periportální fibrogenezi¹⁷⁸. Na rozvoji jaterní fibrózy se podílí i dysbióza, která zvyšuje střevní permeabilitu pro nebezpečné signály pocházející ze střevních mikroorganismů, které aktivují TLR4 na jaterních Kupfferových buňkách a HSC, což stimuluje prozánětlivé a profibrogenní dráhy^{164 179 180}.

Hedgehog signalizace

Hepatocyty změněné balónovou degenerací uvolňují do ECM stresové faktory jako např. ligand sonic hedgehog (SHH). SHH je signálem pro jiné hepatocyty, Kupferovy buňky, HSC, endoteliální buňky sinusoid a HPC, díky němuž odumírající hepatocyty nastartují složitý proces regenerace umožňující jejich náhradu. SHH ovlivňuje polarizaci makrofágů a lokální rovnováhu mezi zánětlivými, protizánětlivými a fibrogenními cytokiny. Zvýšení hedgehog signalizace usnadňuje rozvoj NASH cirhózy a karcinogeneze, pokles hedgehog signalizace tlumí jaterní regeneraci a náhradu odumřelých hepatocytů¹⁵⁴.

Shrnutí patofyziologie NASH

NASH je komplexní onemocnění, na kterém se nejčastěji podílí kombinace genetických faktorů, získaných faktorů souvisejících s IR¹⁸¹, spolu s dietou a endotoxémií ze střevní mikrobioty¹⁸². Klíčovou roli hraje vysoký příjem energie zejména v podobě nasycených tuků nebo jednoduchých cukrů v kombinaci se sedavým způsobem života, které vedou ke zvětšení a dysfunkci tukové tkáně, rozvoji IR, nárůstu lipolýzy, *de novo* lipogeneze a vzniku steatózy jater¹⁸³. Poškození hepatocytů není způsobeno TG, ale akumulací jiných typů lipidů (FFA, diacylglyceroly, cholesterol a jiné), jejichž metabolismus zvyšuje oxidační stres a může vést k poškození mitochondrií a ER. Poškozené hepatocyty nastartují regenerační proces, který zajistí jejich náhradu a zahrnuje akumulaci zánětlivých buněk a expanzi HPC a myofibroblastů¹⁵⁴. Na rozvoji jaterního zánětu a fibrózy se podílí i dysbióza, která zvyšuje střevní permeabilitu pro nebezpečné signály pocházející ze střevních mikroorganismů, které aktivují TLR4 na jaterních Kupfferových buňkách a HSC, což stimuluje prozánětlivé a profibrogenní dráhy¹⁶⁴. Narůstající množství dat dokládá primární roli genetických faktorů (*PNPLA3* rs738409,

TM6SF2 rs58542926 a další) pro vznik NAFLD¹⁴⁹ a její progresi do cirhózy a HCC¹⁴⁵, přičemž vliv genetických faktorů je zásadním způsobem navýšen současně přítomnou obezitou¹⁴⁹.

1.6. Význam NAFLD v obecné populaci a u pacientů po LT

Progresivní fibróza

Dle metaanalýzy z roku 2015 dochází postupem času u 33,6 % pacientů s NAFLD k histologické progresi fibrózy, u 43,1 % je fibróza stabilní a u 22,3 % regreduje (interval mezi biopsiemi byl průměrně 5,2 let). U NASH progreduje fibróza průměrně o 1 stupeň za 7,1 let, u NAFL je průměrná progresie fibrózy podstatně pomalejší o 1 stupeň za 14,3 let¹⁸⁴. U 44 % pacientů se vstupní NAFL jsou v následné biopsii (po mediánu 6,6 let) přítomny známky NASH⁸⁸. Rizikovými faktory progresie fibrózy u NAFLD je T2DM⁸⁸ a hypertenze¹⁸⁴.

Přítomnost a stupeň fibrózy je u pacientů s NAFLD hlavním rizikovým faktorem spojeným s nepříznivou prognózou. Ve studii 619 pacientů s NAFLD (medián sledování 12,6 let) byla fibróza jediným histologickým parametrem, který koreloval s nepříznivou prognózou (úmrtním nebo LT), přičemž riziko stoupalo s vyšším počátečním stupněm fibrózy⁸⁷. Podobný závěr přinesla i studie s průměrnou dobou sledování 26,4 let¹⁸⁵.

NASH cirhóza jako indikace k LT

V Evropě významně narůstá procento indikací k LT pro NASH cirhózu z 1,2 % v roce 2002 na 8,4 % v roce 2016. Přežívání pacientů a štěpů indikovaných pro NASH je srovnatelné s ostatními diagnózami⁴. V USA tvořila NASH cirhóza v roce 2014 dokonce 17,4 % všech indikací k LT¹⁸⁶.

HCC asociovaný s NASH

Přítomnost NAFLD s sebou nese riziko vzniku HCC^{185 187 188}. Roční kumulativní incidence HCC u NASH cirhózy je 2,6 % (oproti 4,0 % u HCV), riziko zvyšuje současná konzumace alkoholu¹⁸⁷. Jen asi 50,0-77,2 % pacientů s HCC u NAFLD má současně přítomnou cirhózu. Pacienti s HCC u NAFLD bývají starší než nemocní s HCC u jiných jaterních chorob. HCC u NAFLD bývá v době stanovení diagnózy větší, častěji roste infiltrativně a častěji je diagnostikován mimo systematickou surveillance. U všech pacientů s HCC různé etiologie je častá obezita a T2DM^{189 190}. Z ELTR vyplývá, že u pacientů transplantovaných pro NASH byl častější výskyt HCC (39,1 %) než u non-NASH pacientů (28,9 %)⁴.

Vliv NAFLD na celkovou a kardiovaskulární mortalitu a morbiditu

Pacienti s NAFLD mají vyšší riziko mortality než pacienti bez NAFLD^{3 185 191 192}. Nejčastější příčinou úmrtí u pacientů s NAFLD jsou kardiovaskulární onemocnění následovaná nádorovými onemocněními, jaterní choroby jsou třetí nejčastější příčinou úmrtí³. Metaanalýza zahrnující celkem 34 043 pacientů, z nichž byla u 36,3 % diagnostikována NAFLD histologicky nebo zobrazovacími metodami, potvrdila vyšší riziko fatálních i nefatálních kardiovaskulárních příhod u pacientů s NAFLD¹⁹³. Pokles aktivity NAFLD vede ke zpomalení progresie tloušťky intimy-medie karotid jako markeru kardiovaskulárního rizika¹⁹⁴.

Význam NAFLD po LT

O významu NAFLD po LT existuje jen malé množství dat. Některé studie popsaly podobné přežívání pacientů s potransplantační NAFLD a bez ní ^{195 196}. NASH *de novo* po LT byl nezávisle asociován s horším dlouhodobým přežíváním ve studii 194 příjemců LT (30 % kumulativní přežívání 15 let po LT u pacientů s NASH versus 65,8 % u pacientů bez NASH) ¹⁹⁷. V jiné studii 588 příjemců LT měli pacienti s potransplantačním NASH zvýšené riziko nepříznivého průběhu, jelikož jedna třetina z nich zemřela v průběhu 5 let od diagnózy a 26 % vyvinulo kardiovaskulární příhodu ¹⁹⁶. Až 27 % pacientů s rekurentním NASH může vyvinout bridging fibrózu/cirhózu 5 let po LT ²⁵. Steatóza *de novo* po LT byla asociována s aterogenní dyslipidemií ¹⁹⁸

2. Cíle disertační práce

2.1. Zhodnocení prevalence, vývoje, rizikových faktorů a významu steatózy po LT

- 2.1.1. Zjistit prevalenci, incidenci a popsat vývoj steatózy/steatohepatitidy po LT
- 2.1.2. Identifikovat předtransplantační a potransplantační metabolické rizikové faktory steatózy/steatohepatitidy po LT
- 2.1.3. Zjistit vliv steatózy/steatohepatitidy po LT na progresi fibrózy a funkci štěpu
- 2.1.4. Zjistit vliv steatózy po LT na celkovou a jaterní mortalitu pacientů

2.2. Zhodnocení významu genotypů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409 dárce a příjemce v patofyziologii steatózy po LT

- 2.2.1. Porovnat frekvence genotypů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409 u příjemců, dárců a v obecné populaci
- 2.2.2. Posoudit příspěvek genotypů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409 dárce a příjemce k rozvoji steatózy po LT
- 2.2.3. Zhodnotit vliv interakce genotypů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409 na rozvoj steatózy po LT
- 2.2.4. Zhodnotit význam interakce genotypů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409 s obezitou na rozvoj steatózy po LT
- 2.2.5. Zjistit vliv genotypů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409 dárce a příjemce na rozvoj steatohepatitidy po LT

2.3. Zhodnocení významu inzulinové rezistence pro vznik a progresi NAFLD po LT

- 2.3.1. Zjistit prevalenci a popsat vývoj inzulinové rezistence před a po LT
- 2.3.2. Zhodnotit vztah předtransplantační inzulinové rezistence a klinických a metabolických faktorů
- 2.3.3. Zjistit případnou souvislost potransplantační inzulinové rezistence s klinickými a metabolickými faktory a podávanou imunosupresí
- 2.3.4. Zhodnotit souvislost potransplantační inzulinové rezistence se vznikem a progresí NAFLD po LT hodnocené histologicky, MR vyšetřením a elastografií

3. Metodika

3.1. Hodnocení steatózy histologickým vyšetřením jaterního štěpu

Biopsie jaterního štěpu byly hodnoceny na přítomnost steatózy definované jako přítomnost tukových kapének ve ≥ 5 % hepatocytů při barvení hematoxylin-eosin. U všech biopsií byla provedena re/klasifikace NAFLD podle Kleiner a steatóza kvantifikována dle procenta postižených hepatocytů jako stupeň "0" u < 5 % postižených hepatocytů, stupeň "1" u 5-33 % hepatocytů, stupeň "2" u 33,1-66 % hepatocytů a stupeň "3" u > 66 % hepatocytů⁹. Steatohepatitida byla definovaná jako NAFLD Activity Score (NAS) ≥ 5 ⁹. Steatózu stupně 2 nebo 3 (> 33 %) jsme souhrnně označovali jako „významná“ steatóza. Pokud v daném časovém období existovalo více biopsií, hodnotili jsme biopsii s nejvyšším stupněm steatózy. Pokud existovalo více biopsií se stejným (nejvyšším) stupněm steatózy v daném časovém období, analyzovali jsme poslední biopsii s cílem umožnit delší časový interval do možného rozvoje NASH a/nebo fibrózy. Biopsie byly hodnoceny zaslepeně k výsledkům genotypizace.

3.2. Genotypizace lokusů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409

DNA příjemců a dárců byla izolována z periferní krve pomocí kitu Qiagen QIAamp (Qiagen, Hilden, Germany) nebo biorobotů Qiagen GenoVision GenoM6 nebo EZ1. Lokus rs58542926 v *TM6SF2* byl analyzován pomocí TaqMan SNP analýzy č. C_89463510_10 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Lokus rs738409 v *PNPLA3* byl genotypován pomocí TaqMan SNP analýzy č. C_7241_10. Genotypizace byla provedena podle protokolu výrobce. Obě analýzy byly provedeny na Real-Time PCR přístroji Applied Biosystems ABI 7300 (Thermo Fischer Scientific).

3.3. Hodnocení inzulínové rezistence

Pacientům byla po celonočním lačnění odebrána krev na vyšetření glykémie a inzulínémie, z nichž byl vypočten HOMA-IR $\{[\text{lačná inzulínémie } (\mu\text{U/ml})] \times [\text{lačná glykémie } (\text{mol/l})]\} / 22,5$, QUICKI index $1 / \{\log [\text{lačná inzulínémie } (\mu\text{U/ml})] + \log [\text{lačná glykémie } (\text{mg/dl})]\}$, poměr G/I ratio $[\text{lačná glykémie } (\text{mg/dl})] / [\text{lačná inzulínémie } (\mu\text{U/ml})]$ a dále $1 / [\text{lačná inzulínémie } (\mu\text{U/ml})]$ ⁶³. Pro hodnocení IR jsme použili kritérium HOMA-IR $\geq 3,0$. IR byla dále hodnocena i jako nízký ($< 0,357$) QUICKI index inzulínové senzitivity.

3.4. Statistické hodnocení

Kategorické proměnné jsou prezentovány jako absolutní a relativní frekvence a kontinuální proměnné jsou prezentovány jako průměr a směrodatná odchylka.

V epidemiologické studii (publikace č.1 k tématu dizertace) bylo přežívání pacientů hodnoceno Kaplan-Meierovou metodou, rozdíly mezi skupinami byly hodnoceny pomocí log-rank testu. K hodnocení vlivu jednotlivých faktorů na rozvoj steatózy byly v univariantsní analýze použity Chi-kvadrát test, t-test nebo Mann-Whitneyův test. Faktory významné v univariantsní analýze ($p < 0,05$) byly použity pro multivariantsní analýzu, která byla provedena metodou logistického regresního modelu.

Ve studii hodnotící vliv genetických faktorů (publikace č.2 k tématu dizertace) byl účinek alel *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G dárce a příjemce, klinických a laboratorních

proměnných na stupeň steatózy hodnocen ordinální logistickou regresní analýzou. Pro výpočet odds ratio (OR) byly použity dominantní modely. Do multivariantní analýzy byly použity faktory s $p < 0,06$ v univariantní analýze. U dárců, příjemců a u náhodně vybraného českého populačního vzorku 623 účastníků studie MONICA¹⁹⁹ byly testovány frekvence genotypů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409 na Hardyho-Weinbergovu rovnováhu. K porovnání distribuce genotypů mezi kohortami (dárci, příjemci, MONICA studie) a k porovnání prevalence steatózy u různých kombinací genotypů byl použit Pearsonův chi-kvadrát test. K hodnocení vlivu genotypů na NAS byl použit Mann-Whitney test.

V prospektivní studii hodnotící význam IR (publikace č.3 k tématu dizertace) byl vývoj spojitých proměnných v čase hodnocen pro gaussovské veličiny párovým t-testem, pro negaussovské veličiny Wilcoxonovým neparametrickým testem a pro kategorické proměnné byl použit Stuartův test. Následně byla na hladiny významnosti použita Bonferroniho korekce pro mnohonásobná srovnání. Vztah HOMA-IR ke kategorickým proměnným byl hodnocen Kruskal-Wallisovým testem a vztah ke spojitým proměnným byl popsán Spearmanovým korelačním koeficientem. Pro posouzení vývoje daného parametru byli hodnoceni pacienti, u kterých byly veličiny k dispozici ve všech 4 plánovaných kontrolách. K hodnocení celkového potransplantačního vývoje v čase byla použita ANOVA se smíšenými efekty, p hodnoty se počítaly na základě F-statistiky.

Za statisticky významné byly použity hodnoty $p < 0,05$, všechny hodnoty p odpovídaly výsledkům oboustranných testů. Pro statistické hodnocení byly použity statistické softwary JMP 10.0.0 statistický software, SAS Institute Inc. 2012 a BMDP 8.1, Statistical Solutions Ltd. 2009.

4. Výsledky a diskuze

4.1. Hodnocení prevalence, vývoje, rizikových faktorů a významu steatózy po LT (publikace č.1 k tématu disertace)

Charakteristika sledovaného souboru. Prevalenci, vývoj, metabolické rizikové faktory a význam steatózy po LT jsme hodnotili ve studii 548 dospělých příjemců LT (560 štěpů) z období 1/1995-4/2010, kteří měli provedenou ≥ 1 biopsii > 30 dní po LT. Celkem bylo analyzováno 2360 biopsií (> 30 dní po LT), 1578 protokolárních a 782 neprotokolárních (průměr 4,3 biopsie na pacienta). U všech biopsií byla pomocí histologického vyšetření zhodnocena přítomnost a stupeň steatózy/steatohepatitidy, biopsie byly reklasifikovány podle Kleinerova ⁹. Vstupní charakteristika studijní skupiny je shrnuta v **Tabulce 1**. Žádný pacient nebyl indikován k LT pro NASH cirhózu. Medián doby sledování po LT byl 65,2 měsíců.

Tabulka 1. Vstupní charakteristika studijní skupiny

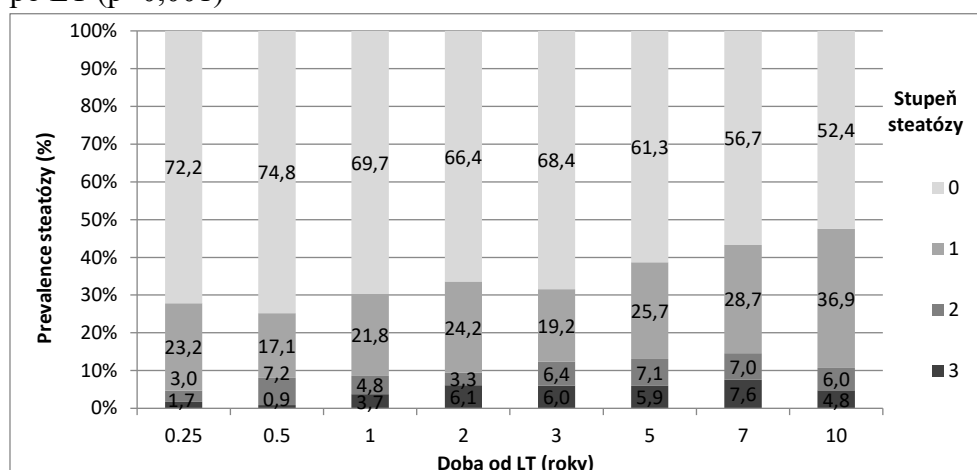
Předtransplantační faktory	Všichni pacienti (n=548)	Steatotická skupina (n=90)	Kontrolní skupina (n=214)
Muži, n (%)	317 (57,8)	57 (63,3)	116 (54,2)
Věk (roky, průměr \pm SD)	48,76 \pm 11,10	50,04 \pm 8,58	47,39 \pm 12,36
MELD (průměr \pm SD)	15,73 \pm 5,78	15,03 \pm 5,05	16,29 \pm 6,36
BMI (kg/m ² , průměr \pm SD)	24,96 \pm 3,94	25,98 \pm 3,86	24,10 \pm 3,36
Indikace k LT: Alkoholická cirhóza, n (%)	160 (29,2)	43 (47,8)	38 (17,8)
HCV cirhóza, n (%)	117 (21,4)	18 (20,0)	36 (16,8)
Primární sklerózující cholangitida, n (%)	66 (12,0)	2 (2,2)	40 (18,7)
Primární biliární cirhóza, n (%)	47 (8,6)	5 (5,6)	22 (10,3)
HBV cirhóza/ fulminantní HBV, n (%)	33 (6,0)	5 (5,6)	11 (5,1)
Autoimunní cirhóza, n (%)	32 (5,8)	2 (2,2)	13 (6,1)
Kryptogenní cirhóza, n (%)	30 (5,5)	5 (5,6)	11 (5,1)
Wilsonova nemoc, n (%)	20 (3,7)	2 (2,2)	13 (6,1)
Polycystická nemoc jater, n (%)	14 (2,6)	1 (1,1)	8 (3,7)
Ostatní	29 (5,3)	7 (7,8)	22 (10,3)
HCC, n (%)	37 (6,8)	5 (5,6)	15 (7,0)
Potransplantační faktory (ke konci sledování)			
BMI (kg/m ² , průměr \pm SD)	25,63 \pm 4,28	27,74 \pm 4,03	24,42 \pm 3,98
Nadváha (BMI 25,0-29,9 kg/m ²), n (%)	189 (34,5)	40 (44,4)	65 (30,4)
Obezita (BMI \geq 30 kg/m ²), n (%)	98 (17,9)	32 (35,6)	21 (9,8)
DM, n (%)	161 (29,4)	41 (45,6)	51 (23,8)
Hypertenze, n (%)	369 (67,3)	70 (77,8)	131 (61,2)
Hypertriglyceridémie (\geq 1,7 mmol/l)*, n (%)	305 (55,7)	67 (74,4)	93 (43,4)
Sledování (měsíce, průměr \pm SD)	73,48 \pm 47,48	88,19 \pm 48,75	71,28 \pm 46,20
* při ≥ 2 měřeních v průběhu potransplantačního sledování s odstupem ≥ 3 měsíce			

4.1.1. Prevalence, incidence a vývoj steatózy/steatohepatitidy po LT

Prevalence steatózy byla hodnocena v jednotlivých časových obdobích po LT, pro hodnocení celkové prevalence steatózy byl brán do úvahy nejvyšší stupeň steatózy. Steatóza byla nalezena u 309 (56,4 %) pacientů, a to stupeň 3 u 42 (7,7 %) pacientů, stupeň 2 u 51 (9,3 %) pacientů a stupeň 1 u 216 (39,4 %) pacientů. Významná steatóza byla nalezena u 93 (17,0 %) a steatohepatitida u 57 (10,4 %) pacientů. V průběhu sledování 239 (43,6 %) pacientů steatózu nevyvinulo (grade 0). Počet biopsií byl podobný u pacientů se steatózou ($4,8 \pm 2,9$) a pacientů bez steatózy ($3,6 \pm 2,6$). Doba sledování byla podobná u pacientů se steatózou ($79,9 \pm 46,4$ měsíců) a pacientů bez steatózy ($65,1 \pm 47,5$ měsíců). Medián doby do prvního výskytu steatózy byl 13,1 měsíců po LT.

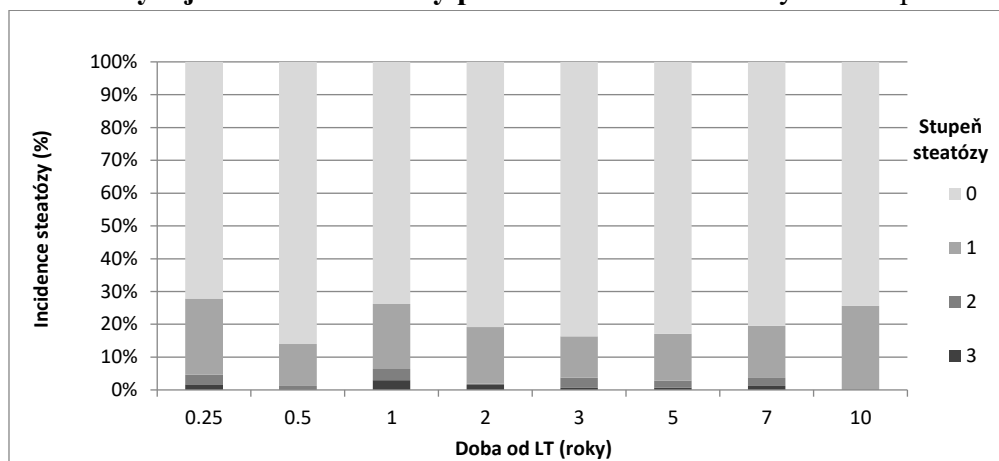
Prevalence steatózy (**Obr. 1**) v čase narůstala z 30,3 % v 1 roce na 38,7 % v 5 letech a 47,6 % v 10 letech po LT ($p < 0,001$). Narůstala steatóza stupně 1 ($p = 0,003$), steatóza stupně 2 a 3 zůstaly bez významných změn ($p = 0,07$). Incidence steatózy se v čase nelišila ($p = 0,85$; **Obr. 2**).

Obr. 1. Vývoj prevalence steatózy po LT. Prevalence steatózy (stupně 1-3) narůstala v čase po LT ($p < 0,001$)



Roky od LT	0,25	0,5	1	2	3	5	7	10
Časový interval	1-5M	5-9M	9M-1,5R	1,5-2,5R	2,5-4R	4-6R	6-8R	8-15R
Počet štěpů (n)	237	111	455	393	250	253	171	84
Stupeň steatózy 0, n	171	83	317	261	171	155	97	44
Stupeň steatózy 1, n	55	19	99	95	48	65	49	31
Stupeň steatózy 2, n	7	8	22	13	16	18	12	5
Stupeň steatózy 3, n	4	1	17	24	15	15	13	4
Stupně steatózy 1+2+3, %	27,8%	25,2%	30,3%	33,6%	31,6%	38,7%	43,3%	47,6%
Biopsie, n	389	126	518	428	291	305	195	108
Biopsie, %	16,5%	5,3%	21,9%	18,1%	12,3%	12,9%	8,3%	4,6%

Obr. 2. Vývoj incidence steatózy po LT. Incidence steatózy zůstala po LT stabilní ($p=0,85$).



Roky od LT	0,25	0,5	1	2	3	5	7	10
Časový interval	1-5M	5-9M	9M-1,5R	1,5-2,5R	2,5-4R	4-6R	6-8R	8-15R
Počet štěpů (n)	237	86	405	266	159	140	82	39
Nový výskyt steatózy (stupně 1-3), n	66	12	106	51	26	24	16	10
Nový výskyt steatózy (stupně 1-3), %	27,8%	14,0%	26,2%	19,2%	16,4%	17,1%	19,5%	25,6%
Stupeň steatózy 0, n	171	74	299	215	133	116	66	29
Stupeň steatózy 1, n	55	11	80	46	20	20	13	10
Stupeň steatózy 2, n	7	1	14	1	5	3	2	0
Stupeň steatózy 3, n	4	0	12	4	1	1	1	0

4.1.2. Předtransplantační a potransplantační metabolické rizikové faktory steatózy/steatohepatitidy po LT

Rizikové faktory steatózy byly hodnoceny porovnáním klinických a laboratorních proměnných mezi 90 pacienty, kteří vyvinuli významnou (stupeň 2 nebo 3) steatózu > 5 měsíců po LT (steatotická skupina) a 214 pacienty, kteří ve sledovaném období steatózu nevyvinuli a měli ≥ 1 biopsii > 5 měsíců po LT (kontrolní skupina). V obou skupinách byly hodnoceny předtransplantační faktory, iniciální imunoprese (**Tabulka 2**) a potransplantační faktory v době prvního výskytu významné steatózy nebo odpovídající doby od LT u kontrolní skupiny (**Tabulka 3**). Mezi skupinami byla porovnána přítomnost fibrózy v hodnocené biopsii a její progresse do poslední dostupné biopsie.

Rizikové faktory steatohepatitidy byly hodnoceny ve steatotické skupině porovnáním podskupiny se steatohepatidou ($n=42$) oproti pacientům bez steatohepatitidy ($n=48$), mezi podskupinami byla porovnána i přítomnost a progresse fibrózy.

Přežívání po prvním roce od LT bylo porovnáno mezi skupinou pacientů s významnou steatózou oproti pacientům se stupni steatózy 0-1 pomocí Kaplan-Meierovy metody. Výskyt steatózy byl porovnán mezi 531 funkčními štěpy a 29 selhanými štěpy s následnou retransplantací ($n=14$) nebo úmrtím pacienta ($n=15$).

Tabulka 2. Vliv předtransplantačních faktorů a iniciální imunosuprese na rozvoj významné steatózy (>33 %; stupně 2-3). Univariantní analýza.

Předtransplantační faktory a iniciální imunosuprese	Steatotická skupina (n=90)	Kontrolní skupina (n=214)	p
Muži, n (%)	57 (63,3)	116 (54,2)	ns
Věk (roky, průměr ± SD)	50,04 ± 8,58	47,39 ± 12,36	0,03
BMI (kg/m ² , průměr ± SD)	25,98 ± 3,86	24,10 ± 3,36	<0,001
Indikace k LT: Alkoholická cirhóza*, n (%)	43 (47,8)	38 (17,8)	<0,001
Biliární cirhóza*, n (%)	10 (11,1)	64 (29,9)	
HCV cirhóza, n (%)	18 (20,0)	36 (16,8)	
HBV cirhóza/ fulminantní HBV, n (%)	5 (5,6)	11 (5,1)	
Kryptogenní cirhóza, n (%)	5 (5,6)	11 (5,1)	
Autoimunní cirhóza, n (%)	2 (2,2)	13 (6,1)	
Wilsonova nemoc, n (%)	2 (2,2)	13 (6,1)	
Ostatní, n (%)	5 (5,6)	28 (13,1)	
HCC, n (%)	5 (5,6)	15 (7,0)	ns
Child-Pugh skóre A/B/C, n (%)	9/42/39 (10,0/46,7/43,3)	31/105/78 (14,5/49,1/36,4)	ns
MELD (průměr ± SD)	15,03 ± 5,05	16,29 ± 6,36	ns
Hypertenze, n (%)	22 (24,4)	45 (21,0)	ns
Kouření, n (%)	47 (52,2)	82 (38,3)	0,03
DM 2.typ, n (%)	20 (22,2)	21 (9,8)	0,004
DM 2.typ, non-inzulin dependentní, n (%)	13 (14,4)	11 (5,1)	0,02
DM 2.typ, inzulin dependentní, n (%)	7 (7,8)	10 (4,7)	ns
DM 1.typ, n (%)	0 (0)	2 (0,9)	ns
Předtransplantační kortikoidy, n (%)	2 (2,2)	19 (8,8)	ns
Laboratorní vyšetření**: HbA _{1c} (%), průměr ± SD)	3,22 ± 1,15 (34)	3,03 ± 0,95 (96)	ns
Glukóza (mmol/l, průměr ± SD)	6,68 ± 2,49	5,94 ± 2,09	0,008
Celkový cholesterol (mmol/l, průměr ± SD)	3,60 ± 1,45 (76)	4,27 ± 1,80 (190)	0,002
HDL cholesterol (mmol/l, průměr ± SD)	1,04 ± 0,45 (57)	1,07 ± 0,54 (134)	ns
LDL cholesterol (mmol/l, průměr ± SD)	2,20 ± 0,98 (52)	2,62 ± 1,18 (124)	0,02
TG (mmol/l, průměr ± SD)	0,98 ± 0,45 (74)	1,12 ± 0,60 (186)	ns
Celkový bilirubin (μmol/l, průměr ± SD)	73,04 ± 118,06	106,29 ± 142,64	0,004
ALT (μkat/l, průměr ± SD)	0,87 ± 0,95	1,87 ± 5,19	<0,001
AST (μkat/l, průměr ± SD)	1,30 ± 0,81	2,13 ± 2,81	<0,001
ALP (μkat/l, průměr ± SD)	3,46 ± 2,05	5,17 ± 4,34	0,01
GGT (μkat/l, průměr ± SD)	1,99 ± 3,32	3,03 ± 4,54	0,05
Kreatinin (μmol/l, průměr ± SD)	87,34 ± 52,28	103,36 ± 107,21	ns
Stupeň steatózy v biopsii explantátu jater 0/1/2/3, n (%)	61/16/4/1 (74,4/19,5/4,9/1,2)	159/40/2/2 (78,3/19,7/1,0/1,0)	ns
Stupeň steatózy v postreperfuční biopsii 0/1/2/3, n (%)	21/8/1/2 (65,6/25,0/3,1/6,2)	51/25/6/2 (60,7/29,8/7,1/2,4)	ns
Věk dárce (roky, průměr ± SD)	35,58 ± 14,58	35,94 ± 16,04	ns
Iniciální IS: Cyklosporin, n (%)	44 (48,9)	79 (36,9)	0,05
Takrolimus, n (%)	46 (51,1)	135 (63,1)	0,05
MMF, n (%)	37 (41,1)	116 (54,2)	0,04
Azathioprin, n (%)	28 (31,1)	50 (23,4)	ns
Kortikoidy, n (%)	84 (93,3)	207 (96,7)	ns
Zenapax, n (%)	11 (12,2)	18 (8,4)	ns
ATG, n (%)	34 (37,8)	59 (27,6)	ns
* podskupiny se statisticky významnými rozdíly			
** pro inkompletní laboratorní výsledky jsou uvedeny počty (n) pacientů			

Tabulka 3. Vliv potransplantačních faktorů na rozvoj významné steatózy (>33 %; stupně 2-3). Univariální analýza.

Potransplantační faktory v době biopsie	Steatotická skupina (n=90)	Kontrolní skupina (n=214)	p
Doba od LT 6M/1R/2R/3R/5R/7R/10R, n (%)	7/36/14/14/10/8/1 (7,8/40,0/15,6/15,6/11,1/8,9/1,1)	13/91/36/30/23/18/3 (6,1/42,5/16,8/14,0/10,7/8,4/1,4)	ns
Věk (roky, průměr ± SD)	53,11 ± 8,43	50,41 ± 12,30	0,03
BMI (kg/m ² , průměr ± SD)	27,61 ± 3,85	24,16 ± 3,64	<0,001
Hypertenze, n (%)	70 (77,8)	119 (55,6)	<0,001
DM 2.typ, n (%)	38 (42,2)	47 (22,0)	<0,001
DM 2.typ, non-inzulin dependentní, n (%)	21 (23,3)	22 (10,3)	0,01
DM 2.typ, inzulin dependentní, n (%)	17 (18,9)	25 (11,7)	ns
DM 2. typu, de novo, n (%)	18 (25,7)	26 (13,6)	0,02
DM 2.typ, preexistující, n (%)	20 (22,2)	21 (9,8)	0,004
DM 1.typ, n (%)	0 (0)	2 (0,9)	ns
Abusus/jiná konzumace alkoholu, n (%)	2/8 (2,2/8,9)	0/4 (0,0/1,9)	0,001
Medikace: ACEI, n (%)	29 (32,2)	48 (22,4)	ns
Statiny, n (%)	9 (10,0)	20 (9,3)	ns
Laboratorní vyšetření*: HbA _{1c} (%), průměr ± SD)	4,39 ± 1,40 (66)	3,72 ± 1,00 (178)	<0,001
Glukóza (mmol/l, průměr ± SD)	6,08 ± 1,78	5,42 ± 1,66	0,003
Celkový cholesterol (mmol/l, průměr ± SD)	4,75 ± 1,21 (84)	4,53 ± 1,07 (206)	ns
HDL cholesterol (mmol/l, průměr ± SD)	1,10 ± 0,45 (79)	1,21 ± 0,38 (198)	0,03
LDL cholesterol (mmol/l, průměr ± SD)	2,58 ± 0,87 (70)	2,63 ± 0,83 (186)	ns
TG (mmol/l, průměr ± SD)	2,55 ± 2,43	1,45 ± 0,80 (211)	<0,001
Celkový bilirubin (μmol/l, průměr ± SD)	17,95 ± 11,48	16,58 ± 13,85	0,03
ALT (μkat/l, průměr ± SD)	1,07 ± 1,61	0,83 ± 1,86	<0,001
AST (μkat/l, průměr ± SD)	0,89 ± 1,17	0,63 ± 0,93	<0,001
ALP (μkat/l, průměr ± SD)	1,79 ± 0,95	1,92 ± 1,58	ns
GGT (μkat/l, průměr ± SD)	1,18 ± 1,49	1,13 ± 2,77	<0,001
Kreatinin (μmol/l, průměr ± SD)	103,61 ± 29,55	112,41 ± 46,14	0,048
HBsAg pozitivita, n (%)	6 (6,7)	6 (2,8)	ns
Metabolický syndrom, n (%)	57 (63,3)	54 (25,2)	<0,001
IS: Cyklosporin, n (%)	38 (42,2)	62 (29,0)	0,02
Takrolimus, n (%)	47 (52,2)	141 (65,9)	0,03
Sirolimus, n (%)	2 (2,2)	16 (7,5)	ns
MMF, n (%)	38 (42,2)	99 (46,3)	ns
Azathioprin, n (%)	11 (12,2)	19 (8,9)	ns
Kortikoidy, n (%)	37 (41,1)	106 (49,5)	ns
Histologické nálezy v hodnocené biopsii			
Stupeň steatózy 0/1/2/3, n (%)	0/0/63/27 (0/0/70,0/30,0)	214/0/0/0 (100,0/0/0/0)	
Stádium fibrózy 0/1/2/3/4, n (%)	8/66/7/8/1 (8,9/73,3/7,8/8,9/1,1)	28/139/13/24/5 (13,4/66,5/6,2/11,5/2,4)	ns
Rekurence HCV, n (%)	16 (17,8)	28 (13,1)	ns
Rejekce, n (%)	4 (4,4)	14 (6,5)	ns
Potransplantační sledování			
Počet všech biopsií (průměr ± SD)	5,27 ± 2,87	3,87 ± 2,64	<0,001
Sledování (měsíce, průměr ± SD)	88,19 ± 48,75	71,28 ± 46,20	0,007

* pro inkompletní laboratorní výsledky jsou uvedeny počty (n) pacientů

Multivariantní analýza (**Tabulka 4**) prokázala, že mezi nezávislé **předtransplantační** rizikové faktory významné steatózy patřila alkoholická cirhóza jako indikace k LT a vysoké BMI, zatímco zvýšená hodnota ALP a mykofenolát mofetil (MMF) v iniciální imunosupresi (IS) měly na rozvoj steatózy protektivní účinek. Mezi nezávislé **potransplantační** rizikové faktory významné steatózy dle multivariantní analýzy (**Tabulka 4**) patřily vyšší BMI, sérové TG, konzumace alkoholu a T2DM, zatímco vyšší hladina sérového kreatininu měla na rozvoj steatózy protektivní účinek.

Tabulka 4. Rizikové faktory významné (> 33 %; stupně 2-3) steatózy. Multivariantní analýza.

Předtransplantační faktory a iniciální IS	OR	95%CI	p
Indikace k LT: Alkoholická cirhóza	3,62	2,04–6,42	<0,001
BMI (vzestup o 1 kg/m ²)	1,13	1,05–1,22	0,002
ALP (vzestup o 1 µkat/l)	0,88	0,80–0,98	0,01
MMF v iniciální IS	0,48	0,28–0,84	0,009
Potransplantační faktory v době hodnocené biopsie			
BMI (vzestup o 1 kg/m ²)	1,27	1,17–1,38	<0,001
TG (vzestup o 1 mmol/l)	1,97	1,46–2,65	<0,001
Konzumace alkoholu	9,46	2,32–38,6	0,005
Kreatinin (vzestup o 1 µmol/l)	0,987	0,977–0,996	0,02
DM 2.typu	1,97	1,04–3,74	0,048

Významné rozdíly mezi podskupinou pacientů se steatohepatidou (NAS ≥ 5) a podskupinou s prostou steatózou (NAS < 5) u steatotické skupiny dle univariantní analýzy jsou zobrazeny v **Tabulce 5**.

Tabulka 5. Významné rozdíly mezi podskupinou se steatohepatidou (NAS ≥ 5) a podskupinou s prostou steatózou (NAS < 5) u steatotické skupiny. Univariantní analýza

Předtransplantační faktory	Steatohepatitická podskupina (n=42)	Podskupina s prostou steatózou (n=48)	p
Muži, n (%)	21 (50,0)	36 (75,0)	0,01
Výška (cm, průměr ± SD)	169,83 ± 8,11	174,54 ± 8,11	0,007
LDL cholesterol (mmol/l, průměr ± SD)*	1,95 ± 0,94 (25)	2,43 ± 0,97 (27)	0,046
TG (mmol/l, průměr ± SD)*	1,10 ± 0,44 (33)	0,89 ± 0,44 (41)	0,01
Potransplantační faktory v době biopsie			
Kreatinin (µmol/l, průměr ± SD)	96,46 ± 28,65	109,87 ± 29,19	0,03
Histologické nálezy v hodnocené biopsii			
Steatóza stupeň 2/3, n (%)	19/23 (45,2/54,8)	44/4 (91,7/8,3)	<0,001
Zánět stupeň 0/1/2/3, n (%)	2/30/8/2 (4,8/71,4/19,0/4,8)	4/41/3/0 (8,3/85,4/6,3/0)	ns
Balónová degenerace stupeň 0/1/2, n (%)	0/19/23 (0/45,2/54,8)	21/27/0 (43,8/56,2/0)	<0,001
Fibróza stádium 0/1/2/3/4, n (%)	1/35/3/2/1 (2,4/83,3/7,1/4,8/2,4)	7/31/4/6/0 (14,6/64,6/8,3/12,5/0)	ns
HCV recurrence, n (%)	8 (19,0)	8 (16,7)	ns
Rejekce, n (%)	2 (4,8)	2 (4,2)	ns

* pro inkompletní laboratorní výsledky jsou uvedeny počty (n) pacientů

Multivariantní analýza prokázala, že nezávislým rizikovým faktorem steatohepatitidy bylo pouze ženské pohlaví (OR 3,00, 95 % CI 1,22-7,40; p=0,02).

4.1.3. Vliv steatózy/steatohepatitidy po LT na progresi fibrózy a funkci štěpu

Nález významné steatózy nebyl doprovázen vyšším stupněm fibrózy než v kontrolní skupině ($p=0,62$; **Tabulka 3**). Ve skupině pacientů s významnou steatózou došlo od hodnocené biopsie do poslední dostupné biopsie k častější progresi fibrózy (52,5 % pacientů vs 31,5 %) a méně často k její regresi (1,7 % pacientů vs 9,0 %; $p=0,01$) než u kontrolní skupiny, pacienti s významnou steatózou však měli delší interval mezi biopsiemi ($53,1 \pm 31,2$ měsíců) než pacienti z kontrolní skupiny ($35,8 \pm 24,0$ měsíců; $p<0,001$).

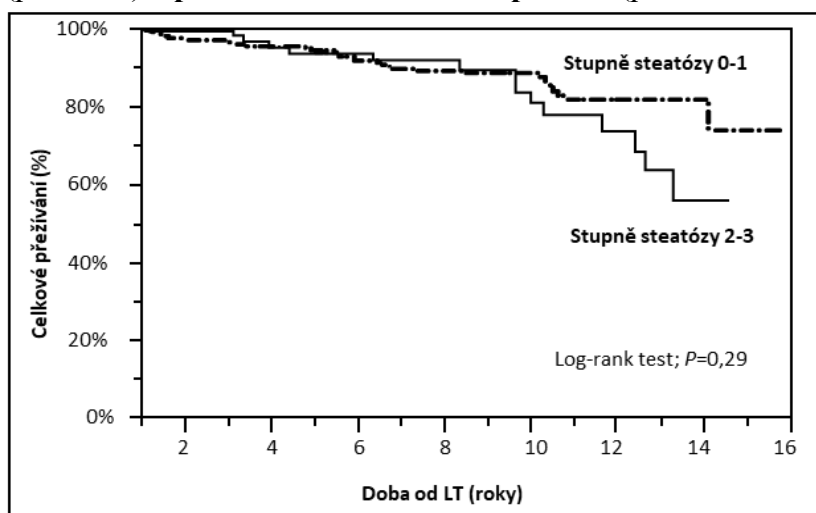
Přítomnost steatohepatitidy nebyla doprovázeny vyšším stupněm fibrózy ($p=0,17$; **Tabulka 5**) ani častější progresí stupně fibrózy ($p=0,31$).

Výskyt steatózy byl srovnatelný u 531 funkčních štěpů (55,7 %) a 29 selhaných štěpů (51,7 %; $p=0,96$).

4.1.4. Vliv steatózy po LT na celkovou a jaterní mortalitu pacientů

Ze 507 pacientů, kteří přežili více než 1 rok po LT, bylo ke konci sledování naživu 456 pacientů a zemřelo 51 pacientů. Mezi přežíváním pacientů s významnou steatózou ($n=91$) a pacientů se steatózou stupně 0-1 ($n=416$) nebyl významný rozdíl (**Obr. 3**; $p=0,29$), pacienti s významnou steatózou však měli patrný trend k horšímu dlouhodobému přežívání (81,3 % versus 89,0 % v 10 letech a 56,2 % versus 74,6 % v 15 letech po LT) oproti pacientům se steatózou 0-1.

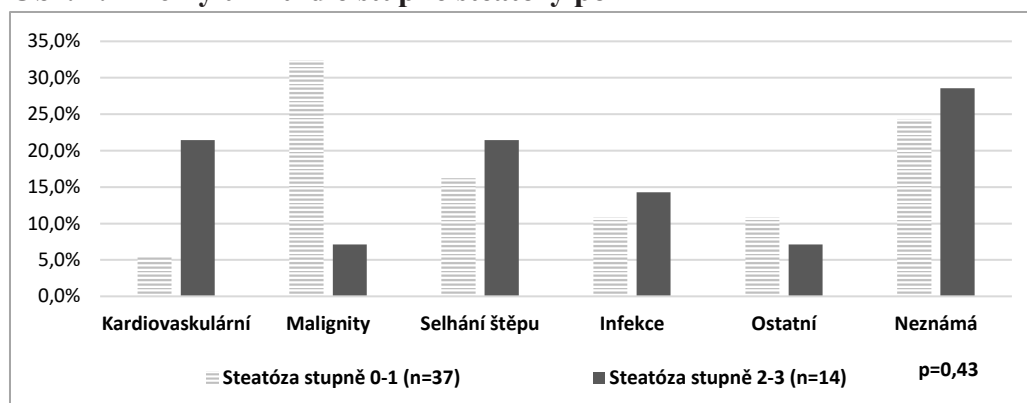
Obr. 3. Potransplantační přežívání po prvním roce u pacientů s významnou steatózou (plná čára) a pacientů se steatózou stupně 0-1 (přerušovaná čára).



Roky od LT	1	2	4	6	8	10	12	14	15
Pacienti v riziku (n); Stupně steatózy 0-1	416	376	284	194	139	88	39	13	4
Pacienti v riziku (n); Stupně steatózy 2-3	91	88	61	54	43	29	19	3	1

Rozdíly mezi příčinami úmrtí u pacientů s významnou steatózou (n=14) a pacientů se steatózou stupně 0-1 (n=37) nebyly významné (**Obr. 4**; p=0,43), pacienti s významnou steatózou měli trend k vyšší kardiovaskulární mortalitě a nižší mortalitě na malignity, jaterní mortalita byla srovnatelná

Obr. 4. Příčiny úmrtí dle stupně steatózy po LT



4.1.5. Diskuze

Naše práce ²⁰⁰ představuje jednu z nejrozsáhlejších studií vycházejících z velké databáze protokolárních biopsií, která hodnotila prevalenci, rizikové faktory, vývoj a význam steatózy u neselektované kohorty pacientů po LT.

Prevalence steatózy po LT zjištěná v našem souboru (56,4 %) přesahuje prevalenci NAFLD *de novo* po LT udávanou v recentní metaanalýze (26 %, s rozmezím 14,7-52 %) ²⁸. U našich příjemců byla častá potransplantační nadváha/obezita (52,4 %), DM (29,4 %) a hypertriglyceridémie (55,7 %), potransplantační konzumace alkoholu byla naopak zřídka. K častému nález steatózy mohla přispět dlouhá doba sledování (medián 65,2 měsíců) a vysoký počet biopsií, jelikož prevalence steatózy po LT narůstá (z 30,3 % v 1 roce na 47,6 % v 10 letech po LT), výskyt v čase může být proměnlivý a nález v játrech může být nehomogenní. Vysokou prevalenci steatózy (70 %) po LT prokázala i recentní studie, která steatózu hodnotila pomocí transientní elastografie s využitím controlled attenuation parameter (CAP) ²⁰¹.

Potvrdili jsme vztah obezity a T2DM s rozvojem steatózy po LT ^{38 39 202 203 204}. Příčinou hypertriglyceridémie u pacientů s NAFLD, pozorované i v naší práci a dalších studiích ³⁸, je zvýšená tvorba VLDL částic bohatých na TG ¹⁴.

Podobně jako v jiných studiích ^{38 201} jsme našli vyšší riziko steatózy po LT u pacientů indikovaných pro alkoholickou cirhózou. Jen malá část pacientů indikovaných pro alkoholickou cirhózu, kteří vyvinuli významnou steatózu po LT, připustila návrat k jakékoliv konzumaci alkoholu po LT (18,6 %), výskyt potransplantační nadváhy/obezity (79,1 %), T2DM (44,2 %) a hypertriglyceridémie (51,1 %) u nich byl naopak vysoký. Mnoho z nich (58,1 %) mělo nadváhu/obezitu již před LT, což v kombinaci s absencí NASH cirhózy v našem souboru a nízkou hranicí konzumovaného alkoholu pro stanovení diagnózy alkoholická cirhóza nasvědčuje, že řada našich pacientů indikovaných pro alkoholovou nemoc jater mohla mít současně i NAFLD, která běžně (70-88 %) po LT rekuruje ^{23 24}.

Vyšší předtransplantační ALP byla v naší práci spojena s nižším rizikem steatózy. Vysoké hodnoty ALP jsou charakteristické pro pacienty s cholestatickými chorobami, u

kterých bylo popsáno nízké riziko rozvoje NAFLD *de novo* po LT²⁸, a indikují agresivnější formu biliární cirhózy^{205 206}, zatímco v patogenezi biliární cirhózy s nízkým ALP mohou hrát roli kofaktory jako oxidativní stres, obezita, steatóza a příjem alkoholu²⁰⁷.

Významná steatóza měla v naší práci vztah k nižším sérovým hodnotám kreatininu. Kreatinin je markerem svalové hmoty a nízký poměr kreatininu k tělesné hmotnosti byl spojen se zvýšeným rizikem NAFLD²⁰⁸.

MMF podávaný iniciálně byl spojen s nižším rizikem steatózy v naší studii, vliv typu CNI nebo jiné imunosupresivní léčby jsme neprokázali. Data o vlivu imunosuprese na rozvoj steatózy jsou omezená. Dvě menší studie nenalezly rozdíl ve výskytu steatózy v závislosti na použitém CNI^{25 26}, v jiné studii byl s rizikem steatózy spojen takrolimus³⁸, jedna studie popsala zvýšené riziko steatózy při léčbě sirolimem³⁹. Vztah MMF a steatózy nebyl v literatuře popsán. MMF měl na zvířecích modelech preventivní účinek před rozvojem zánětlivých infiltrátů pankreatu a hyperglykémie^{209 210}. MMF by tak mohl ovlivňovat metabolismus glukózy, IR a následně i rozvoj steatózy. Pacienti s iniciálním MMF měli v naší studii trend k nižším hodnotám glykovaného hemoglobinu 1 rok po LT ve steatotické i kontrolní skupině. Neprokázali jsme vztah iniciálně podaného MMF na přírůstek hmotnosti po LT nebo současné dávky CNI. Imunosuprese bez MMF nezávisle predikovala časné úmrtí po LT z kardiovaskulárních příčin²¹¹.

Ženy měly v naší studii vyšší riziko steatohepatitidy. U žen byla popsána zvýšená prevalence pokročilejších forem NAFLD²¹². Příčinou těžších stupňů steatózy a fibrotizující NASH u postmenopauzálních žen je pravděpodobně deficit estrogenů²¹³.

Významná steatóza nebyla v naší studii doprovázena vyšším stupněm fibrózy, mírná nebo středně závažná fibróza však byla častá bez ohledu na přítomnost steatózy. Naše výsledky mohou nasvědčovat akceleraci fibrózy po rozvoji významné steatózy, ale vzhledem k omezenému počtu a rozdílným intervalům následných biopsií mezi skupinami nebyly průkazné. V nedávné práci byl pozorován častý (téměř 40 %) výskyt významné fibrózy (F2-4) štěpu u pacientů s NAFLD *de novo* po LT, přičemž vývoj odpovídal progresi o 1 stupeň fibrózy za 2,5 let³⁹. Naopak v jiné práci nebyla pozorována progresie fibrózy v závislosti na přítomnosti steatózy po LT²¹⁴. Progresivní fibróza jaterního štěpu může mít i další příčiny jako např. rekurence HCV²¹⁴ nebo chronická alloreaktivita, která nedosáhla stupně manifestní rejekce²¹⁵. Přítomnost steatózy nebyla v naší práci doprovázena častějším selháním štěpu.

I když rozdíly v přežívání mezi skupinami nebyly statisticky významné, u pacientů s významnou steatózou jsme pozorovali trend k horšímu dlouhodobému přežívání oproti pacientům bez významné steatózy (81,3 % versus 89,0 % v 10 letech a 56,2 % versus 74,6 % v 15 letech po LT) a současně i trend k vyšší kardiovaskulární mortalitě. Několik studií popsalo srovnatelné přežívání pacientů s potransplantační NAFLD a bez ní^{39 195 196}, v jedné z nich³⁹ byl patrný trend k vyšší dlouhodobé mortalitě u pacientů s NAFLD. Dvě studie^{196 197} prokázaly nepříznivý potransplantační průběh u pacientů s NASH *de novo* po LT s úmrtím 28 % pacientů do 5 let od diagnózy¹⁹⁶ nebo pouhým 30 % kumulativním přežíváním 15 let po LT (oproti 65,8 % u pacientů bez NASH)¹⁹⁷. Trend k vyšší kardiovaskulární mortalitě u pacientů s významnou steatózou v naší práci je v souladu dalšími pracemi, kde byla steatóza *de novo* po LT asociována s aterogenní dyslipidemií¹⁹⁸ a NASH *de novo* po LT byl spojen s vysokým rizikem kardiovaskulární příhody (26 % do 5 let od diagnózy)¹⁹⁶. Vyšší riziko fatálních i nefatálních kardiovaskulárních příhod u pacientů s NAFLD bylo popsáno i v obecné

populaci ¹⁹³. Nález významné steatózy nebyl v naší práci doprovázen vyšší mortalitou z jaterních příčin, což odpovídá i závěrům studie s NASH *de novo* ¹⁹⁷.

4.2. Význam genotypů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409 dárce a příjemce v patofyziologii steatózy po LT (publikace č.2 k tématu disertace)

Charakteristika studijní skupiny. Studijní skupina zahrnuje 268 dospělých příjemců jaterního štěpu z let 1995-2010, u kterých byl k dispozici vzorek krve příjemce i dárce pro genotypování a současně měli provedenou ≥ 1 biopsii jater odebranou 6-30 měsíců po LT. Celkem bylo u těchto pacientů k dispozici 576 biopsií štěpu provedených 6-30 měsíců po LT. Většina biopsií (93,7 %) byla protokolárních, ostatní byly provedeny nejčastěji ke zjištění příčiny elevace jaterních testů. Klinické proměnné (**Tabulka 6**) byly hodnoceny před LT a 1 rok po LT, laboratorní proměnné byly hodnoceny 1 rok po LT.

Tabulka 6. Charakteristika studijní skupiny (n=268) před LT a 1 rok (± 3 měsíce) po LT

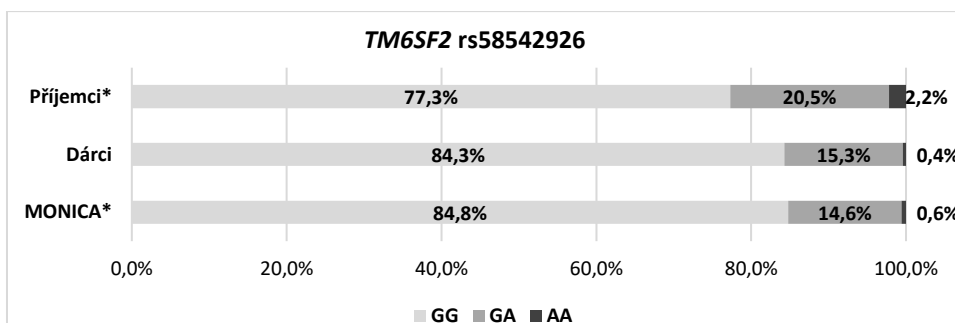
Věk & pohlaví	Před LT	1 rok po LT
Mužské pohlaví příjemce; n (%)	149 (55,6)	NA
Věk příjemce při LT (roky); průměr \pm SD	48,43 \pm 11,67	NA
Charakteristiky dárce		
Věk dárce (roky); průměr \pm SD	37,48 \pm 15,54	NA
BMI dárce (kg/m ²); průměr \pm SD	23,68 \pm 3,20 (n=263)	NA
Stupeň steatózy v postreperfuční biopsii 0/1/2/3, n (%)	64/40/9/4 (54,7/34,2/7,7/3,4) (n=117)	NA
Etiologie jaterního onemocnění		
Alkoholická cirhóza; n (%)	58 (21,6)	NA
HCV; n (%)	38 (14,2)	NA
HBV; n (%)	25 (9,3)	NA
Biliární cirhóza; n (%)	78 (29,1)	NA
Kryptogenní cirhóza; n (%)	15 (5,6)	NA
Jiná cirhóza; n (%)	28 (10,5)	NA
Necirhotické onemocnění jater; n (%)	26 (9,7)	NA
Metabolické proměnné		
BMI (kg/m ²); průměr \pm SD	24,90 \pm 4,01	25,03 \pm 4,13
DM; n (%)	48 (17,9)	68 (25,4)
Hypertenze; n (%)	59 (22,0)	145 (54,1)
Glykémie (mmol/l); průměr \pm SD	NA	5,45 \pm 1,33
Celkový cholesterol (mmol/l); průměr \pm SD	NA	4,50 \pm 1,10 (n=260)
HDL cholesterol (mmol/l); průměr \pm SD	NA	1,16 \pm 0,36 (n=249)
Non-HDL cholesterol (mmol/l); průměr \pm SD	NA	3,32 \pm 0,99 (n=247)
TG (mmol/l); průměr \pm SD	NA	1,68 \pm 1,15 (n=262)
AST (μ kat/l); průměr \pm SD	NA	0,48 \pm 0,32
ALT (μ kat/l); průměr \pm SD	NA	0,58 \pm 0,42
Udržovací imunosuprese		
Takrolimus; n (%)	NA	198 (73,9)
Cyklosporin; n (%)	NA	59 (22,0)
MMF; n (%)	NA	129 (48,1)
Sirolimus; n (%)	NA	18 (6,7)
Kortikoidy; n (%)	NA	126 (47,0)
NA - nelze aplikovat. Pro inkompletní data jsou uvedeny počty (n) pacientů		

4.2.1. Frekvence genotypů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409 u příjemců, dárců a v obecné populaci

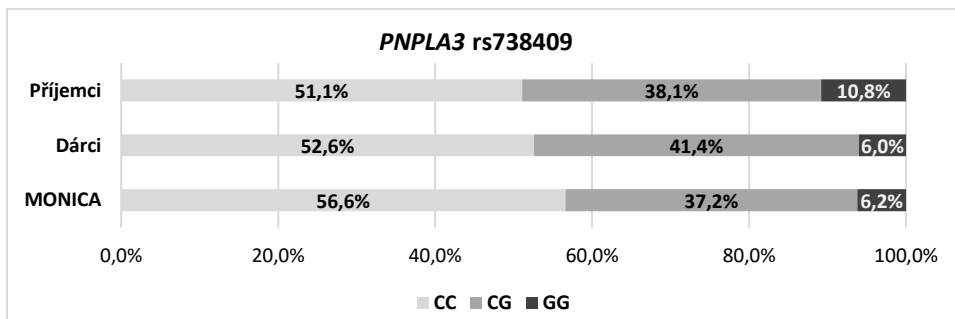
Frekvence genotypů *TM6SF2* rs58542926 u příjemců, dárců a účastníků studie MONICA¹⁹⁹ jsou znázorněny v **Obr. 5**. Frekvence genotypů *TM6SF2* rs58542926 příjemců, dárců i ve studii MONICA odpovídaly Hardy-Weinbergově rovnováze. Zastoupení genotypů u dárců bylo prakticky identické ($p=0,927$) se zastoupením ve studii MONICA. Vyšší frekvence *TM6SF2* rs58542926 AA homozygotů pozorovaná mezi příjemci LT (0,022) než ve studii MONICA (0,006; $p=0,024^*$) naznačuje potenciální úlohu tohoto polymorfismu ve vývoji a progresi různých jaterních onemocnění. Frekvence minoritní alely *TM6SF2* c.499A u dárců (0,08) a ve studii MONICA (0,08) byly v souladu s Evropskými populačními podskupinami databázi GnomAD (0,07) a ExAC (0,08) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs58542926>).

Frekvence genotypů *PNPLA3* rs738409 u příjemců, dárců a ve studii MONICA jsou znázorněny v **Obr. 6**. Frekvence genotypů *PNPLA3* rs738409 příjemců, dárců i ve studii MONICA¹⁹⁹ odpovídaly Hardy-Weinbergově rovnováze. Frekvence *PNPLA3* rs738409 genotypů se u dárců ($p=0,999$) ani u příjemců ($p=0,117$) nelišily od frekvencí ve studii MONICA. Frekvence minoritní alely *PNPLA3* c.444G u dárců (0,27) a ve studii MONICA (0,25) byly v souladu s frekvencemi Evropských populačních podskupin databázi GnomAD (0,23) a ExAC (0,23) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs738409>).

Obr. 5. Frekvence genotypů *TM6SF2* rs58542926 GG/GA/AA u příjemců, dárců a ve studii MONICA¹⁹⁹



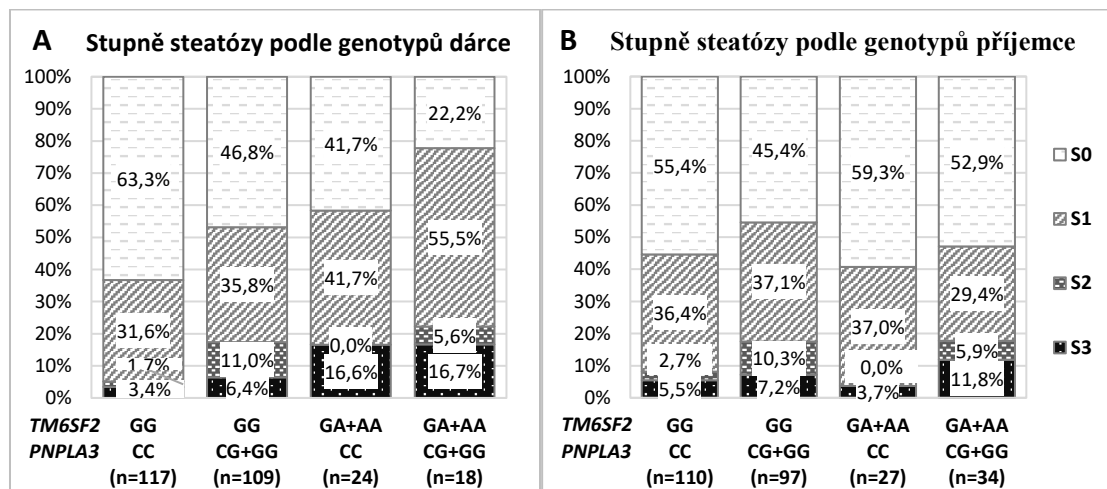
Obr. 6. Frekvence genotypů *PNPLA3* rs738409 CC/CG/GG u příjemců, dárců a ve studii MONICA¹⁹⁹



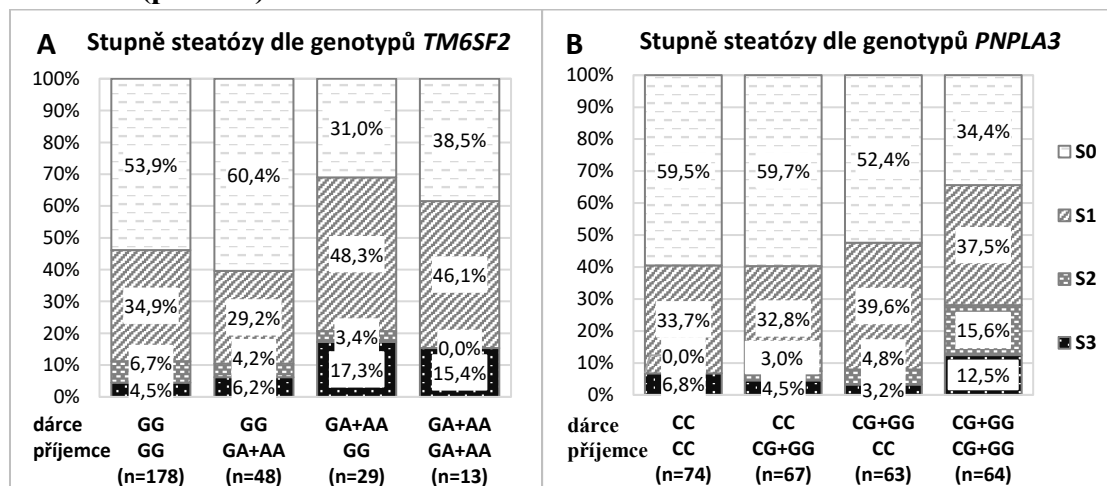
4.2.2. Příspěvek genotypů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409 dárce a příjemce k rozvoji steatózy po LT

Steatóza byla nalezena u 129 (48,1 %) pacientů, u 18 (6,7 %) stupně 3, u 15 (5,6 %) stupně 2 a u 96 (35,8 %) stupně 1. U zbývajících 139 (51,9 %) pacientů steatóza nebyla přítomna (stupeň 0). Distribuce stupňů steatózy ve skupinách pacientů klasifikovaných podle dárcovských a příjemcovských genotypů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409 je uvedena v Obr. 7 a 8. Obr. 7 ukazuje distribuci stupňů steatózy u skupin pacientů klasifikovaných podle kombinací dárcovského genotypu *PNPLA3* rs738409 a *TM6SF2* rs58542926 (panel A) a podle kombinací příjemcovského genotypu *PNPLA3* rs738409 a *TM6SF2* rs58542926 (panel B). Obr. 8 ukazuje distribuci stupňů steatózy u skupin pacientů klasifikovaných podle kombinací dárcovského a příjemcovského genotypu *TM6SF2* rs58542926 (panel A) nebo *PNPLA3* rs738409 (panel B).

Obr. 7. Distribuce stupňů steatózy u skupin pacientů klasifikovaných podle kombinací dárcovského (panel A) a příjemcovského (panel B) genotypu v lokusech *PNPLA3* rs738409 a *TM6SF2* rs58542926.



Obr. 8. Distribuce stupňů steatózy u skupin pacientů klasifikovaných podle kombinací dárcovského a příjemcovského genotypu *TM6SF2* rs58542926 (panel A) a *PNPLA3* rs738409 (panel B).



V univariální analýze předtransplantačních charakteristik (**Tabulka 7**) byly se zvýšeným obsahem jaterního tuku po LT spojeny alely *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G u dárce, věk příjemce, alkoholové nebo HCV asociované jaterní onemocnění, BMI a přítomnost DM. Necirhotické jaterní onemocnění bylo asociováno s nižším rizikem steatózy štěpu. Z potransplantačních charakteristik (**Tabulka 8**) byly v univariální analýze se steatózou jaterního štěpu významně asociovány BMI, přítomnost DM, TG, AST a ALT, zatímco hladina sérového HDL cholesterolu a léčba kortikoidy byly spojeny s nižším rizikem steatózy štěpu.

Tabulka 7. Vstupní proměnné a steatóza štěpu. Univariální analýza (n=268)

Vstupní proměnné	Rizikový faktor (přítomnost nebo vzestup o jednotku)	OR	95%CI	p
Dárcovský genotyp <i>TM6SF2</i> rs58542926	AA/AG versus GG	2,37	1,28–4,42	0,006
Příjemcovský genotyp <i>TM6SF2</i> rs58542926	AA/AG versus GG	0,84	0,48–1,46	ns
Dárcovský genotyp <i>PNPLA3</i> rs738409	GG/GC versus CC	2,04	1,28–3,27	0,003
Příjemcovský genotyp <i>PNPLA3</i> rs738409	GG/GC versus CC	1,59	1,00–2,53	0,051
Pohlaví příjemce	muži	1,41	0,90–2,32	ns
Věk příjemce	rok	1,04	1,02–1,06	<0,001
Věk dárce	rok	1,01	1,00–1,03	ns
BMI dárce	kg/m ²	0,95	0,88–1,02	ns
Steatóza v postreperfuční biopsii	stupeň	1,07	0,68–1,68	ns
BMI	kg/m ²	1,16	1,09–1,23	<0,001
DM		2,20	1,20–4,00	0,013
Hypertenze		1,40	0,82–2,50	ns
Etiologie jaterního onemocnění				
- biliární cirhóza (bazální kategorie)		1,00		
- alkoholická cirhóza vs biliární		2,50	1,30–4,80	0,007
- HCV vs biliární		2,30	1,10–4,80	0,029
- HBV vs biliární		1,50	0,64–3,70	ns
- kryptogenní cirhóza vs biliární		1,30	0,42–3,70	ns
- jiná cirhóza vs biliární		0,92	0,40–2,10	ns
- necirhotické jaterní onemocnění vs biliární		0,11	0,03–0,51	0,005

Tabulka 8. Proměnné příjemce 1 rok po LT a steatóza štěpu. Univariální analýza (n=268)

Proměnné 1 rok po LT	Rizikový faktor (přítomnost nebo vzestup o jednotku)	OR	95%CI	p
BMI	kg/m ²	1,20	1,13–1,28	<0,001
DM		1,26	1,10–3,10	0,028
Hypertenze		1,60	0,99–2,50	ns
Glykémie	mmol/l	1,13	0,95–1,34	ns
Celkový cholesterol	mmol/l	0,90	0,73–1,11	ns
HDL cholesterol	mmol/l	0,36	0,18–0,73	0,005
Non-HDL cholesterol	mmol/l	1,00	0,81–1,30	ns
TG	mmol/l	1,49	1,22–1,82	<0,001
AST	μkat/l	3,14	1,54–6,39	0,002
ALT	μkat/l	2,56	1,49–4,42	<0,001
Takrolimus		0,97	0,57–1,70	ns
Cyklosporin		1,00	0,58–1,80	ns
MMF		1,00	0,64–1,60	ns
Sirolimus		0,80	0,30–2,13	ns
Kortikoidy		0,57	0,36–0,91	0,018

Multivariantní analýza (**Tabulka 9**) potvrdila, že pouze nosičství alel *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G dárce, potransplantační BMI a hladina sérových TG nezávisle predikují zvýšený obsah jaterního tuku ve štěpu, zatímco necirhotické jaterní onemocnění jako indikace k LT bylo asociováno s nižším rizikem steatózy štěpu.

Tabulka 9. Rizikové faktory steatózy štěpu v multivariantní analýze (n=249)

Vstupní proměnné	Rizikový faktor	OR	95 % CI	p
Dárcovský genotyp <i>TM6SF2</i> rs58542926	AA/AG versus GG	2,46	1,20–5,05	0,014
Dárcovský genotyp <i>PNPLA3</i> rs738409	GG/GC versus CC	2,17	1,41–3,35	<0,001
Příjemcovský genotyp <i>PNPLA3</i> rs738409	GG/GC versus CC	1,07	0,71–1,61	ns
Věk příjemce	rok	1,02	0,99–1,05	ns
Etiologie jaterního onemocnění				
alkoholická cirhóza nebo HCV		1,05	0,55–2,02	ns
necirhotické onemocnění jater		0,10	0,02–0,45	0,003
Proměnné 1 rok po LT				
BMI	kg/m ²	1,16	1,08–1,25	<0,001
DM		1,02	0,55–1,91	ns
Hypertenze		0,76	0,42–1,40	ns
HDL cholesterol	mmol/l	0,45	0,20–1,03	ns
TG	mmol/l	1,28	1,01–1,64	0,047
AST	μkat/l	0,92	0,20–4,32	ns
ALT	μkat/l	1,73	0,53–5,57	ns
Kortikoidy		0,66	0,37–1,17	ns

Pacienti indikovaní pro necirhotické jaterní onemocnění byli mladší (věk při LT 44,04 ± 12,01 let) než pacienti s ostatními diagnózami (48,90 ± 11,58 let; p=0,058) a žádný z nich neměl DM (0,0 % versus 28,1 %; p<0,001).

Multivariantní analýza neprokázala příjemcovskou alelu *PNPLA3* c.444G jako nezávislý faktor steatózy. Příjemci s alelou *PNPLA3* c.444G měli vyšší BMI 1 rok po LT (25,69 ± 4,32 kg/m²) než příjemci bez alely *PNPLA3* c.444G (24,39 ± 3,87 kg/m²; p=0,010), což může vysvětlovat trend k vyššímu riziku steatózy v univariantní analýze.

4.2.3. Vliv interakce alel *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G dárce na obsah jaterního tuku po LT

Vliv dárcovské alely *TM6SF2* c.499A a dárcovské alely *PNPLA3* c.444G byl v naší studii aditivní, přičemž pro přítomnost obou dárcovských rizikových alel bylo OR 4,90 (95 % konfidenční interval (CI) 2,01-13,00; p<0,001), zatímco pro přítomnost pouze jedné z dárcovských rizikových alel bylo OR 2,22 (95 % CI 1,42-3,61; p=0,002). Prevalence steatózy stoupala z 36,7 % u pacientů bez dárcovských rizikových alel na 53,2 % u pacientů s dárcovskou alelou *PNPLA3* c.444G, 58,3 % u pacientů s dárcovskou alelou *TM6SF2* c.499A a 77,8 % u pacientů s dárcovskou alelou *TM6SF2* c.499A i *PNPLA3* c.444G (**Obr. 7A**; p=0,001).

4.2.4. Účinky alel *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G dárce významně stoupají s vyšším BMI příjemce

Účinek dárcovských alel *TM6SF2* c.499A a *PNPLA* c.444G na obsah jaterního tuku byl v naší práci více vyjádřen v podskupině 116 pacientů s potransplantační nadváhou/obezitou (BMI ≥ 25 kg/m²) s hodnotou OR 4,66 (95 % CI 1,77–12,31; p=0,002) pro alelu *TM6SF2* c.499A a OR 2,23 (95 % CI 1,12–4,43; p=0,022) pro alelu *PNPLA* c.444G. Účinek dárcovských alel *TM6SF2* c.499A a *PNPLA* c.444G nedosahoval statistické významnosti v podskupině 152 štíhlých pacientů (BMI <25 kg/m²) s OR 1,91 (95 % CI 0,81–4,48; p=0,137) pro alelu *TM6SF2* c.499A a OR 1,58 (95 % CI 0,82–3,06; p=0,174) pro alelu *PNPLA3* c.444G.

4.2.5. Alely *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G dárce a alela *PNPLA3* c.444G příjemce jsou asociovány s vyšším NAS v hodnocené biopsii

Dárcovský genotyp *TM6SF2* rs58542926 +A byl asociován s vyšším NAS v hodnocené biopsii (medián 2, mezikvartilové rozpětí (IQR) 0–3) než genotyp GG (medián 1, IQR 0–2; p=0,022), významný vliv příjemcovského genotypu (p=0,064) jsme neprokázali. Nenalezli jsme žádnou souvislost mezi dárcovskou (p=0,303) nebo příjemcovskou (p=0,888) alelou *TM6SF2* c.499A a stádiem fibrózy v hodnocené biopsii (publikace č.2).

Dárcovský genotyp *PNPLA3* rs738409 +G byl asociován s vyšším NAS v hodnocené biopsii (medián 2, IQR 0–3) než genotyp CC (medián 1, IQR 0–2; p=0,001), a rovněž i příjemcovský genotyp *PNPLA* rs738409 +G byl asociován s vyšším NAS v hodnocené biopsii (medián 2, IQR 0–2) než genotyp CC (medián 1, IQR 0–2; p=0,033). Dárcovská alela *PNPLA3* c.444G byla hraničně asociována s vyšším stupněm fibrózy v hodnocené biopsii (OR 1,69, 95 % CI 0,99–2,88; p=0,055), vliv příjemcovské alely *PNPLA3* c.444G jsme neprokázali (p=0,984) (nepublikovaná data).

4.2.6. Diskuze

Naše práce ²¹⁶ jako první hodnotila vliv příjemcovského a dárcovského genotypu *TM6SF2* rs58542926 na rozvoj biopticky potvrzené steatózy jaterního štěpu po LT. Prokázali jsme, že varianty *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G v genomu dárce představují nezávislé rizikové faktory zvýšeného množství jaterního tuku ve štěpu pacientů po LT, zatímco efekt příjemcovských genotypů jsme neprokázali.

Vliv varianty *TM6SF2* c.499A na rozvoj jaterní steatózy byl prokázán ve studiích pacientů s NAFLD ^{139 140 141 142} a HCV ²¹⁷; žádná však nehodnotila vliv jaterní a mimojaterní exprese variantních proteinů. Dvě studie, které hodnotily vliv příjemcovského genotypu *TM6SF2* rs58542926 na rozvoj NAFLD po LT diagnostikované sonograficky ¹²⁷ a pomocí CAP ²¹⁸, neprokázaly účinek genotypu příjemce. Jejich pozorování je v souladu s našimi výsledky i s experimentálními daty ^{132 136}. Ve zmíněných studiích ^{127 218} nemohla být posouzena role dárcovského genotypu *TM6SF2* rs58542926, jelikož vzorky DNA dárce nebyly k dispozici.

Naše studie rovněž potvrzuje, že dárcovská, ale nikoliv příjemcovská varianta *PNPLA3* c.444G významně ovlivňuje obsah tuku v jaterním štěpu, což odpovídá výsledkům naší předchozí studie ²¹⁹, experimentálními datům ¹⁰⁸ i studii příjemců LT pro HCV ¹²⁸. Naopak ve studii z Rakouska nebyl vliv dárcovské varianty *PNPLA3* c.444G významný, zatímco varianta *PNPLA3* c.444G u příjemců zvyšovala riziko steatózy 5 let po LT ¹²⁶. Rozdílné výsledky mohou

být způsobeny menším počtem pacientů, hodnocením steatózy jednorázovým CT vyšetřením místo opakovaných biopsií a častějšími indikacemi spojenými s variantou *PNPLA3* c.444G, zejména alkoholickou cirhózou, v rakouské studii¹²⁶. Naši příjemci nesoucí variantu *PNPLA3* c.444G měli vyšší potransplantační BMI, což může vysvětlovat trend k vyššímu stupni steatózy v univariantní analýze, který nebyl potvrzen multivariantní analýzou. U příjemců s alelou *PNPLA3* c.444G bylo popsáno vyšší riziko obezity 3 roky po LT²²⁰, velké studie u netransplantované populace však nenalezly vztah varianty *PNPLA3* c.444G s vyšším BMI¹⁰³¹¹⁹ a ve studii 1000 zdravých dárců krve měli nosiči alely *PNPLA3* c.444G dokonce nižší BMI než nosiči běžné alely²²¹.

Význam dárcovských, nikoliv příjemcovských genotypů svědčí pro to, že obsah jaterního tuku je primárně ovlivněn jaterní expresí hypomorfních variant *PNPLA3* rs738409 a *TM6SF2* rs58542926 a nikoliv jejich mimojaterní expresí. Podobně i chronická nadměrná exprese mutovaného lidského proteinu *PNPLA3* p.Ile148Met v myších játrech způsobovala steatózu, zatímco nadměrná exprese v tukové tkáni obsah jaterního tuku neovlivňovala¹⁰⁸. Rovněž jaterně specifická inhibice *Tm6sf2* zvyšovala obsah jaterního tuku. Deficit *TM6SF2* v enterocytech vedl po dietě s vysokým obsahem tuku k akumulaci TG v enterocytech a neovlivňoval hladinu sérových TG¹³².

Naše výsledky jsou v souladu s dalšími studiemi, kde měla současná přítomnost variant *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G aditivní účinky na NAFLD diagnostikovanou sonograficky²²²²²³ nebo pomocí CAP²²⁴ a na histologický nálezh NASH a významné fibrózy¹⁴³. V experimentální studii měly varianty *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G aditivní účinek na expresi SREBP-1c a fatty acid syntázy²²⁵.

Naše data rovněž potvrzují významnou interakci genů a adiposity, při které je vliv variant *PNPLA3* c.444G a *TM6SF2* c.499A na obsah jaterního tuku větší u obézních než u štíhlých osob. V rozsáhlé studii Stendera a kol. byly nalezeny významné rozdíly v účinku genotypu *PNPLA3* rs738409 na obsah jaterního tuku měřeného ¹H MRS v závislosti na BMI, přičemž u obézních pacientů byl pozorován mnohem větší účinek varianty *PNPLA3* c.444G než u štíhlých pacientů. Podobný účinek adiposity byl pozorován i pro variantu *TM6SF2* c.499A¹⁴⁹.

Pozorovali jsme zvýšené NAS u pacientů s dárcovskou variantou *TM6SF2* c.499A, což odpovídá zvýšené nekroinflamatorní aktivitě popsané v literatuře¹⁴⁰¹⁴²¹⁴³. Časový interval od LT byl v naší práci pravděpodobně příliš krátký pro posouzení progresu fibrózy štěpu v závislosti na genotypu *TM6SF2* rs58542926. Nalezli jsme i zvýšené NAS a hraničně i vyšší stupeň fibrózy u pacientů s dárcovskou variantou *PNPLA3* c.444G, které odpovídají zvýšené nekroinflamatorní aktivitě a vyššímu stupni fibrózy udávané v dalších pracích¹¹⁷¹¹⁸¹¹⁹¹²⁰¹²¹. V naší práci byla se zvýšeným NAS skóre asociována i příjemcovská varianta *PNPLA3* c.444G, tomuto nálezu však bez potvrzení další rozsáhlejší studií nelze připisovat větší klinický význam. Expresie varianty *PNPLA3* c.444G v tukové tkáni příjemce ke vzniku a progresi NAFLD pravděpodobně nepřispívá¹⁰⁸²²⁶, jelikož její zvýšená exprese v tukové tkáni neměla v experimentální studii vliv na obsah jaterního tuku¹⁰⁸ a u pacientů tato varianta neovlivňovala lipolýzu ani složení FFA v séru²²⁶. U příjemce s variantou *PNPLA3* c.444G, u kterého jaterní onemocnění dospělo až do stádia nevratného poškození jater vyžadujícího transplantační léčbu, se na progresi jaterní choroby velmi pravděpodobně podílely i metabolické rizikové faktory (obezita, T2DM), které mohly zásadním způsobem navýšit genetické riziko. Tyto metabolické

faktory typicky přetrvávají i po LT a mohou se podílet i na patogenezi potransplantační NAFLD/NASH.

4.3. Význam inzulinové rezistence (IR) pro vznik a progresi NAFLD po LT (publikace č.3 k tématu disertace)

Charakteristika sledovaného souboru. Do prospektivní studie jsme zahrnuli dospělé pacienty zařazené na čekací listině k LT, kteří podepsali informovaný souhlas se studií a MR vyšetřením. Mezi exclusion kritéria patřilo akutní jaterní selhání, přítomnost jaterní encefalopatie znemožňující podepsání informovaného souhlasu a kontraindikace MR vyšetření. Celkem bylo v období 5/2015 až 4/2017 do studie zařazeno 123 pacientů, z nichž 77 pacientů absolvovalo všechny 4 plánované kontroly: před LT v době zařazení na čekací listinu (V0), 6 měsíců po LT (V1), 1 rok po LT (V2) a 2 roky po LT (V3).

Při každé kontrole byla zhodnocena klinická data uvedená v **Tabulce 10 a 11** včetně konzumace alkoholu, léčba statiny, antidiabetiky a imunosupresivy. Pacientům byla po celonočním lačnění odebrána krev na laboratorní vyšetření včetně stanovení glykémie a inzulinémie, z nichž byly vypočteny HOMA-IR, QUICKI index, poměr G/I ratio a 1/lačná inzulinémie⁶³. Pacientům, kteří nebyli léčeni inzulinem, byl proveden OGTT s podáním roztoku 75 g glukózy a hodnocena glykémie po 120 minutách.

Pro hodnocení IR jsme použili kritérium HOMA-IR $\geq 3,0$. IR byla dále hodnocena i jako nízký ($<0,357$) QUICKI index inzulinové senzitivity. Hypertenze byla definována jako krevní tlak $\geq 130/85$ mmHg nebo antihypertenzní léčba. DM byl definován jako lačná glykémie $\geq 7,0$ mmol/l (alespoň 2x v posledních 6 M) nebo glykémie při OGTT po 120 minutách $\geq 11,1$ mmol/l nebo léčený DM. Metabolický syndrom byl definován jako přítomnost alespoň tří z 5 následujících faktorů: obvod pasu ≥ 102 cm u mužů a ≥ 88 cm u žen, hypertenze, glykémie nalačno $\geq 5,6$ mmol/l nebo DM, hypertriglyceridémie $\geq 1,7$ mmol/l, HDL cholesterol $<1,0$ mmol/l u mužů a $<1,3$ mmol/l u žen.

Při každé kontrole byl po alespoň 3-hodinovém lačnění stanoven procentní objem tuku v játrech metodou ¹H MRS, toto měření bylo prováděno ve třech standardizovaných částech jater na 3T celotělovém tomografu Trio (Siemens, Německo). Při každé kontrole byla pacientům provedena shear wave elastografie s měřením tuhosti jater (kPa). V 1 roce a ve 2 letech po LT byla v rámci standardního protokolu programu LT v IKEM provedena necílená biopsie jater.

Vstupní charakteristika souboru je znázorněna v **Tabulce 10**. Indikací k LT byla nejčastěji alkoholická cirhóza (29,9 %), biliární cirhóza (20,8 %), NASH (13,0 %) a HCV (13,0 %).

Tabulka 10. Vstupní charakteristika souboru (n=77) před LT

Klinické parametry	n (%) / průměr ± SD
Muži	44 (57,1)
Věk (roky)	56,75 ± 10,13
Indikace k LT: Alkoholická cirhóza	23 (29,9)
Biliární cirhóza	16 (20,8)
NASH cirhóza	10 (13,0)
HCV cirhóza	10 (13,0)
HBV cirhóza	4 (5,2)
Kryptogenní cirhóza	3 (3,9)
Autoimunní cirhóza	3 (3,9)
Ostatní	8 (10,4)
Child-Pugh skóre	8,70 ± 2,25
MELD skóre	14,13 ± 4,27
Hypertenze v anamnéze	33 (42,9)
DM	37 (48,1)
BMI (kg/m²)	27,11 ± 4,56
Obvod pasu (cm)	103,00 ± 13,67
Kouření	18 (23,4)
Metabolický syndrom	42 (54,5)
Medikace	
Statin	4 (5,2)
Inzulin/perorální antidiabetika	7/2 (9,1/2,6)
Iniciální imunosuprese	
Takrolimus	77 (100,0)
MMF	77 (100,0)
Kortikoidy	77 (100,0)
Basiliximab	14 (18,2)

4.3.1. Prevalence a vývoj IR před a po LT

IR definovanou jako HOMA-IR $\geq 3,0$ mělo 26 pacientů (41,3 %) před LT, 16 pacientů (25,4 %) v 6M po LT, 22 pacientů (34,9 %) v 1R po LT a 29 pacientů (46,0 %) v 2R po LT, vzestup mezi 6M a 2R po LT byl významný ($p=0,028$; **Tabulka 11**). Prevalence pacientů s nízkým QUICKI indexem inzulínové sensitivity ($<0,357$) byla stabilně vysoká po celou dobu sledování.

Tabulka 11. Vývoj klinických a laboratorních parametrů a užívané medikace v čase (n=77)

	V0 (před LT)	V1 (6M po LT)	p (V1 vs V0)	V2 (1R po LT)	V3 (2R po LT)	p (V3 vs V1)
Klinické parametry	n (%) / průměr ± SD	n (%) / průměr ± SD		n (%) / průměr ± SD	n (%) / průměr ± SD	
BMI (kg/m ²)	27,11 ± 4,59	26,10 ± 4,03	0,008	27,49 ± 4,51	28,30 ± 4,97	<0,001
Obvod pasu (cm)	103,00 ± 13,76	96,87 ± 12,24	<0,001	98,86 ± 13,26	101,27 ± 13,60	<0,001
Hypertenze	33 (42,9)	48 (62,3)	0,011	48 (62,3)	50 (64,9)	ns
DM	37 (48,1)	32 (41,6)	ns	34 (44,2)	30 (39,0)	ns
Metabolický syndrom	42 (54,5)	42 (54,5)	ns	50 (64,9)	46 (59,7)	ns
Laboratorní parametry						
Celkový bilirubin (umol/l)	62,27 ± 66,44	14,99 ± 14,56	<0,001	15,26 ± 10,10	15,16 ± 9,86	ns
AST (μkat/l)	1,20 ± 0,98	0,46 ± 0,34	<0,001	0,44 ± 0,30	0,42 ± 0,23	ns
ALT (μkat/l)	0,81 ± 0,67	0,63 ± 0,49	ns	0,57 ± 0,37	0,50 ± 0,24	0,029
ALP (μkat/l)	3,41 ± 4,95	2,05 ± 1,95	ns	1,77 ± 1,02	1,76 ± 1,90	ns
GGT (μkat/l)	2,07 ± 2,59	1,27 ± 5,39	<0,001	1,00 ± 4,07	0,62 ± 1,33	0,01
Celkový cholesterol (mmol/l) (n=63)	3,85 ± 1,47	4,81 ± 1,16	<0,001	4,78 ± 1,10	4,71 ± 1,08	ns
HDL cholesterol (mmol/l) (n=62)	0,84 ± 0,37	1,23 ± 0,35	<0,001	1,13 ± 0,34	1,17 ± 0,40	ns
LDL cholesterol (mmol/l) (n=57)	2,44 ± 0,98	2,73 ± 0,97	ns	2,78 ± 0,81	2,71 ± 0,81	ns
TG (mmol/l) (n=63)	1,07 ± 0,81	1,82 ± 1,79	<0,001	1,86 ± 1,17	1,80 ± 1,05	ns
Glykémie nalačno (mmol/l)	5,39 ± 1,85	6,25 ± 1,71	<0,001	6,21 ± 1,69	6,27 ± 1,63	ns
HbA1c (mmol/mol)	31,74 ± 9,77	35,68 ± 9,61	<0,001	38,17 ± 13,34	40,60 ± 10,03	<0,001
OGTT 120 min (mmol/l) (n=22)	10,09 ± 2,68	7,75 ± 2,25	ns	7,62 ± 2,41	7,36 ± 2,01	ns
Inzulínémie nalačno (mIU/l) (n=63)	15,94 ± 16,58	9,10 ± 7,94	<0,001	12,66 ± 14,10	11,43 ± 9,06	0,029
C-peptid (nmol/l) (n=72)	1,27 ± 0,63	1,18 ± 0,50	ns	1,13 ± 0,54	1,09 ± 0,51	ns
Indexy inzulínové rezistence/senzitivity						
HOMA-IR (n=63)	4,11 ± 5,03	2,71 ± 3,68	0,059	3,91 ± 5,45	3,34 ± 3,20	ns
HOMA-IR ≥ 2,5	30 (47,6)	25 (39,7)	ns	32 (50,8)	35 (55,6)	ns
HOMA-IR ≥ 3,0	26 (41,3)	16 (25,4)	ns	22 (34,9)	29 (46,0)	0,028
QUICKI (n=63)	0,34 ± 0,04	0,35 ± 0,04	ns	0,33 ± 0,04	0,34 ± 0,05	ns
QUICKI < 0,357	42 (66,7)	42 (66,7)	ns	45 (71,4)	41 (65,1)	ns
Glukóza (mg/dl)/ Inzulínémie nalačno, (uIU/ml) (n=63)	11,29 ± 9,97	22,11 ± 37,67	<0,001	14,06 ± 8,89	29,25 ± 94,20	ns
1/ Inzulínémie nalačno (uIU/ml) (n=63)	0,12 ± 0,10	0,18 ± 0,21	0,002	0,13 ± 0,09	0,22 ± 0,53	ns
Medikace						
Statin	4 (5,2)	6 (7,8)		9 (11,7)	9 (11,7)	
Inzulín/perorální antidiabetika	7/2 (9,1/2,6)	20/1 (26,0/1,3)		19/1 (24,7/1,3)	16/4 (20,8/5,2)	
Imunosuprese						
Takrolimus/Cyklosporin		75/2 (97,4/2,6)		77/0 (100,0/0,0)	75/1 (97,4/1,3)	
MMF		62 (80,5)		59 (76,6)	57 (74,0)	
Sirolimus/everolimus		1/1 (1,3/1,3)		0/4 (0,0/5,2)	1/6 (1,3/7,8)	
Kortikoidy		55 (71,4)		38 (49,3)	34 (44,2)	

BMI a obvod pasu (**Tabulka 11**) významně poklesly v prvních 6 měsících po LT, do 2 let po LT naopak významně stouply. Během prvních 6 měsíců po LT došlo k významnému nárůstu prevalence hypertenze, která dále byla stabilní. Prevalence DM a metabolického syndromu byly stabilně vysoké před i po LT. V prvních 6 měsících po LT došlo k významnému

vzestupu celkového a HDL cholesterolu a TG, které byly dále stabilní, hodnoty LDL cholesterolu byly stabilní po celou dobu sledování.

Procento objemu tuku v játrech stanovené ¹H MRS (**Tabulka 12**) se v čase významně zvyšovalo. Steatózu jaterního štěpu dle histologie mělo 63,2 % pacientů v 1R po LT a 68,4 % pacientů ve 2R po LT. Stupně steatózy i ostatních histologických znaků NASH a stádium fibrózy byly v prvních dvou letech po LT bez významného vývoje. Tuhost jaterního štěpu hodnocená shear wave elastografií se po LT neměnila.

Tabulka 12. Vývoj MR, elastografických a histologických parametrů v čase

	V0 (před LT)	V1 (6M po LT)	p (V1 vs V0)	V2 (1R po LT)	V3 (2R po LT)	p (V3 vs V1)
MR	průměr ± SD	průměr ± SD		průměr ± SD	průměr ± SD	
Objem tuku jater dle ¹ H MRS (%) (n=56)	1,25 ± 1,55	1,88 ± 1,99	0,026	2,61 ± 3,96	3,79 ± 5,20	<0,001
Shear wave elastografie						
Tuhost jater (kPa) (n=59)		7,32 ± 1,81		7,25 ± 2,78	7,09 ± 2,32	ns
Jaterní biopsie						p (V3 vs V2)
Steatóza stupeň 0/1/2/3 (n=57)				21/24/7/5 (36,8/42,1/12,3/8,8)	18/26/8/5 (31,6/45,6/14,0/8,8)	ns
Záněť stupeň 0/1/2/3 (n=57)				30/22/5/0 (52,6/38,6/8,8/0,0)	34/19/4/0 (59,7/33,3/7,0/0,0)	ns
Balónová degenerace stupeň 0/1/2 (n=57)				43/11/3 (75,4/19,3/5,3)	41/13/3 (71,9/22,8/5,3)	ns
Fibróza stupeň 0/1/2/3/4 (n=57)				1/25/24/6/1 (1,8/43,9/42,1/10,5/1,8)	1/25/26/5/0 (1,8/43,9/45,6/8,8)	ns

4.3.2. Vztah předtransplantační IR a klinických a metabolických faktorů

Předtransplantační HOMA-IR koreloval s věkem, přítomností metabolického syndromu a indikací k LT (**Tabulka 13**), přičemž nejvyšších hodnot HOMA-IR dosahovali pacienti s NASH a HCV cirhózou. Předtransplantační HOMA-IR nekoreloval s množstvím jaterního tuku před LT měřeným MR spektroskopii.

Tabulka 13. Korelace mezi HOMA-IR před LT s ostatními předtransplantačními faktory

Parametr	HOMA-IR (průměr ± SD)	Spearman ρ	p
Pohlaví muži / ženy	3,09 ± 3,32/ 4,74 ± 5,87		ns
Indikace k LT: Alkoholická cirhóza	3,72 ± 3,46		0,029
Biliární cirhóza	3,11 ± 6,44		
NASH cirhóza	7,30 ± 7,51		
HCV cirhóza	4,25 ± 1,98		
HBV cirhóza	2,27 ± 1,05		
Kryptogenní cirhóza	1,93 ± 0,53		
Autoimunní cirhóza	3,91 ± 2,04		
Ostatní	1,88 ± 1,06		
Hypertenze ano/ne	4,72 ± 6,21/ 3,10 ± 2,83		ns
DM ano/ne	4,98 ± 5,99/ 2,70 ± 2,47		0,055
Kouření ano/ne	2,84 ± 2,05/ 4,09 ± 5,15		ns
Metabolický syndrom ano/ne	4,72 ± 5,57/ 2,68 ± 2,86		0,033
Věk		0,243	0,033
Child-Pugh skóre		-0,066	ns
MELD skóre		-0,135	ns
BMI		0,154	ns
Obvod pasu		0,002	ns
Celkový bilirubin		-0,207	ns
AST		-0,176	ns
ALT		-0,159	ns
ALP		-0,199	ns
GGT		-0,143	ns
TG		0,014	ns
Celkový cholesterol		-0,060	ns
LDL cholesterol		-0,103	ns
HDL cholesterol		0,140	ns
Objem tuku v játrech dle 1H MRS (%)		0,075	ns

4.3.3. Vztah potransplantační IR a klinických a metabolických faktorů a podávané imunosuprese

HOMA-IR hodnocený 2R po LT (**Tabulka 14**) koreloval s BMI, přítomností metabolického syndromu a jeho složek (obvod pasu, DM, hypertenze) a gama-glutamyltransferázou (GGT). Většina pacientů byla 2R po LT léčena takrolimem, pouze jediný pacient byl léčený cyklosporinem. Neprokázali jsme vliv imunosupresivní medikace, podávání kortikoidů a jejich dávky nebo podávání statinů na potransplantační IR.

Nárůst prevalence IR v období prvních dvou let po LT byl doprovázen nárůstem BMI a obvodu pasu (**Tabulka 11**), výskyt metabolického syndromu, diabetu a hypertenze byl stabilní, hodnoty GGT v čase klesaly.

4.3.4. Vztah potransplantační IR ke vzniku a progresi NAFLD po LT hodnocené histologicky, MR vyšetřením a elastografií

HOMA-IR hodnocený 2R po LT (**Tabulka 14**) koreloval s množstvím jaterního tuku hodnoceného histologicky i pomocí ¹H MRS, se stupněm balónové degenerace a hraničně i zánětlivých změn v biopsii štěpu a s hodnotami tuhosti jater dle shear wave elastografie. Pozorovali jsme i nárůst HOMA-IR s rostoucím stupněm fibrózy dle histologie, výsledky nebyly signifikantní.

Nárůst prevalence IR v období prvních dvou let byl doprovázen nárůstem množství jaterního tuku dle ¹H MRS (**Tabulka 12**). Histologické parametry NAFLD a hodnoty tuhosti jater dle elastografie byly v prvních dvou letech po LT bez významného vývoje.

Tabulka 14. Korelace mezi HOMA-IR 2R po LT s ostatními faktory 2R po LT

Parametr	HOMA-IR (průměr ± SD)	Spearman ρ	p
Hypertenze ano/ne	4,04 ± 3,62/ 1,98 ± 1,23		0,005
DM ano/ne	4,49 ± 4,34/ 2,60 ± 1,75		0,048
Metabolický syndrom ano/ne	4,29 ± 3,51/ 1,61 ± 1,20		<0,001
BMI		0,505	<0,001
Obvod pasu		0,401	0,001
Celkový bilirubin		-0,184	ns
AST		-0,017	ns
ALT		-0,014	ns
ALP		0,212	ns
GGT		0,310	0,013
TG		0,142	ns
Celkový cholesterol		-0,087	ns
LDL cholesterol		-0,059	ns
HDL cholesterol		-0,167	ns
Kalcineurinový inhibitor			
Takrolimus/cyklosporin (n=1)	3,39 ± 3,20/ 1,86		
Další imunoprese			
O/MMF/everolimus	3,20 ± 3,23/3,39 ± 3,23/3,60 ± 3,39		ns
Kortikoidy ano/ne	3,96 ± 4,35/ 2,93 ± 1,91		ns
Dávka kortikoidů (mg)		0,047	ns
Jiná medikace			
Statin ano/ne	3,84 ± 1,66/3,30 ± 3,35		ns
Objem tuku v játrech dle 1H MRS (%)		0,480	<0,001
Tuhost jater dle elastografie		0,442	<0,001
Biopsie jaterního štěpu			
Steatóza: stupeň 0	1,96 ± 1,12		0,016
stupeň 1	3,35 ± 4,05		
stupeň 2	4,52 ± 3,12		
stupeň 3	4,93 ± 2,32		
Zánět: stupeň 0	2,95 ± 3,72		0,051
stupeň 1	3,74 ± 2,46		
stupeň 2	4,35 ± 2,87		
Balooning: stupeň 0	2,79 ± 3,37		0,005
stupeň 1	4,17 ± 2,87		
stupeň 2	5,67 ± 2,05		
Fibróza: stupeň 1	2,39 ± 1,43		ns
stupeň 2	3,94 ± 4,11		
stupeň 3	4,28 ± 3,08		

4.3.5. Diskuze

V naší práci jsme prospektivně sledovali příjemce jaterního štěpu před LT a 2 roky po LT a hodnotili prevalenci a vývoj IR a souvisejících klinických, laboratorních, MR a histologických parametrů. Zjistili jsme, že prevalence IR definované jako HOMA-IR \geq 3,0 je před LT vysoká (41,3 %), během prvních 6 měsíců po LT vykazuje trend k poklesu na 25,4 % a po 2 letech od LT významně stoupne na 46,0 %. Potransplantační nárůst prevalence IR byl doprovázen nárůstem BMI, obvodu pasu a množství jaterního tuku dle ¹H MRS.

Vysokou prevalenci IR definovanou jako HOMA-IR \geq 3,0 u pacientů zařazených na čekací listinu k LT v naší studii (41,3 %) je obtížné srovnávat s literaturou, protože data o IR

čekatelů na LT jsou velmi omezená a kritéria definující IR nejsou ustálená. Ve studii pacientů s cirhózou a jícnovými varixy dosahovala prevalence IR definované jako HOMA-IR > 3,0 hodnoty 56,6 %²²⁷. V jiné studii byl u pacientů s nově diagnostikovanou cirhózou průměrný HOMA-IR 5,8⁶⁷. Přítomnost IR u pacientů s cirhózou má negativní prognostickou hodnotu. Pacienti s kompenzovanou HCV cirhózou a HOMA-IR > 3,0 měli vyšší riziko jaterní dekompenzace a pacienti s HOMA-IR > 5,0 i vyšší mortalitu²²⁸. HOMA-IR koreluje s HVPG^{67 68} a vyšším rizikem krvácení z jícnových varixů⁶⁷. Jednou z příčin IR u pacientů s cirhózou je chronická hyperinzulinémie²²⁹.

V naší skupině mělo 48,1 % pacientů DM před LT, přičemž k této vysoké prevalenci přispěla i systematická diagnostika DM s pomocí OGTT. Pacienti s tzv. hepatogenním diabetem, který je přímo vázán na ztrátu jaterní funkce a vyvíjí se tedy až po rozvoji cirhózy, mají typicky normální hodnoty lačné glykémie a glykovaného hemoglobinu, ale abnormální odpověď na OGTT, který je nutný pro tuto diagnózu²³⁰. Je-li OGTT použit ke stanovení diagnózy DM u pacientů před LT, může být prevalence DM až 70,9 %⁷⁴. Vyšší hladiny glukózy pozorované u cirhotiků po p.o. podání glukózy jsou iniciálně způsobené zvýšením množství požitých glukózy, která se objeví v systémové cirkulaci, a následně snížením vychytáváním glukózy periferními tkáněmi v důsledku IR. Zvýšená jaterní glukoneogeneze k orální glukózové intoleranci nepřispívá²³¹.

V naší práci i jiných studiích bylo pozorováno zlepšení inzulinové senzitivity^{73 74 75 232} a glukózové tolerance^{74 75} po LT, které jsou způsobeny jak zvýšenou jaterní clearancí glukózy, tak i zvýšenou spotřebou glukózy periferními tkáněmi^{75 232}.

Hlavní příčinou nárůstu prevalence IR v prvních 2 letech po LT je významný nárůst abdominální obezity po LT, což je doprovázeno nárůstem množství jaterního tuku dle ¹H MRS. Ostatní klinické faktory související s IR (DM, hypertenze, metabolický syndrom) a hladiny sérových lipidů byly v průběhu potransplantačního sledování stabilní. Literární data o prevalenci a vývoji IR pacientů po LT jsou velmi omezená. Studie, která zahrnuje 119 pacientů z Brazílie průměrně 4 roky po LT²³⁴, udává prevalence IR definovanou jako HOMA-IR ≥ 3,0 pouze 16 %, přičemž pacienti měli v porovnání s naší studií nižší BMI, nižší prevalence DM, hypertenze a metabolického syndromu.

Předtransplantační IR korelovala s indikací k LT, přičemž nejvyšších hodnot HOMA-IR dosahovali dle očekávání pacienti s NASH a HCV cirhózou. IR je nezávislým prediktorem pokročilé fibrózy u pacientů s NASH^{235 236 237} a HCV^{235 238 239}. Dále v naší studii HOMA-IR koreloval s věkem a přítomností metabolického syndromu. Předtransplantační HOMA-IR nekoreloval s množstvím jaterního tuku před LT měřeným ¹H MRS. To odpovídá skutečnosti, že v cirhoticky přestavěných játrech obsah jaterního tuku klesá i bez významných změn v tělesné hmotnosti²⁴⁰.

IR hodnocená dva roky po LT souvisela s BMI, přítomností metabolického syndromu a jeho složek (obvod pasu, hypertenze, DM) a GGT. Potransplantační IR dále korelovala s množstvím jaterního tuku hodnoceného jak histologicky, tak i pomocí ¹H MRS, se stupněm balónové degenerace a hraničně i zánětlivých změn v biopsii štěpu, což potvrzuje vliv IR na vznik steatózy a NASH i u pacientů po LT, podobně jako tomu je v obecné populaci²³⁶. Podobně i recentní studie u pacientů po LT prokázala centrální význam IR a alterace adipokinů v patogenezi steatózy štěpu po LT hodnocené pomocí CAP⁷⁷. Stupeň IR v naší studii koreloval se stupněm fibrózy dle shear wave elastografie, což je v souladu se studiemi u

netransplantovaných pacientů, kde je IR prediktorem pokročilé fibrózy u různých jaterních chorob^{235 236 237 238 239}. Elastografické hodnocení tuhosti jater je prováděno z většího objemu jater než biopsie a má charakter spojité veličiny, snáze tak může zaznamenat souvislost s dalšími parametry jako např. IR než semikvantitativní hodnocení fibrózy při histologickém vyšetření. Naše data tedy potvrzují, že jak vznik NAFLD po LT, tak i jeho progresse do NASH a fibrotizující formy souvisí s potransplantační IR.

V naší studii byl u naprosté většiny pacientů 2 roky po LT podáván takrolimus, jen jediný pacient byl léčen cyklosporinem, vliv typu CNI na rozvoj IR jsme tak nemohli posoudit. Dle literárních dat má léčba CNI diabetogenní účinky v důsledku zhoršení sekrece inzulínu za bazálních podmínek i po stimulaci glukózou²⁴¹. Data týkající se vlivu CNI na inzulínovou senzitivitu jsou omezená. Ve studii s lidskými adipocyty měly cyklosporin i takrolimus inhibiční efekt na bazální i inzulínem stimulované vychytávání glukózy a snižovaly množství glukózového transportéru 4 (GLUT4) na povrchu preadipocytů, což může přispívat k rozvoji IR a diabetu souvisejících s léčbou CNI²⁴². Dlouhodobá monoterapie cyklosporinem nebo takrolimem však u stabilních pacientů po LT neměla negativní účinky na inzulínovou senzitivitu, inzulínovou sekreci a syntézu²⁴³.

V naší práci měli pacienti léčení kortikoidy nesignifikantně vyšší hodnoty HOMA-IR dva roky po LT, neprokázali jsme vliv dávky kortikoidů na výši HOMA-IR. Dlouhodobá expozice glukokortikoidům způsobuje v játrech, svalch i tukové tkáni IR, zvyšuje glukoneogenezi, lipogenezi, hladinu FFA v cirkulaci a snižuje množství svalové hmoty²⁴⁴. Léčba kortikoidy tak může být doprovázena vyššími hodnotami lačné glykémie, inzulínémie a HOMA-IR²⁴⁵.

V prvních měsících po LT dochází dle naší studie i jiných prací^{73 74 75 232} ke zlepšení inzulínové senzitivity oproti stavu před LT i přes nově zahájenou terapii CNI a kortikoidy. Transplantace jater je tak schopná upravit charakteristické abnormality glukózového metabolismu přítomné u cirhózy²⁴³. S rostoucí dobou od LT pak dle našich dat prevalence IR narůstá a odpovídá nárůstu prevalence abdominální obezity, dávky podávaných imunosupresiv se naopak u většiny pacientů významně snižují. Vliv podávaných imunosupresiv na inzulínovou senzitivitu po LT tak pravděpodobně bude málo významný v porovnání se změnami souvisejícími s obnovenou jaterní funkcí po LT a změnami tělesné hmotnosti.

5. Souhrn výsledků

5.1. Zhodnocení prevalence, vývoje, rizikových faktorů a významu steatózy po LT

1. Prevalence steatózy jaterního štěpu je 56,4 % (stupeň 1 u 39,4 %, stupeň 2 u 9,3 % a stupeň 3 u 7,7 % pacientů), prevalence steatohepatitidy je 10,4 %. Prevalence steatózy narůstá z 30,3 % v 1 roce, 38,7 % v 5 letech na 47,6 % 10 let po LT. Incidence steatózy se v čase po LT nemění. Medián doby do prvního výskytu steatózy je 13,1 měsíců po LT.
2. Mezi nezávislé předtransplantační faktory významné steatózy patří alkoholická cirhóza a vysoké BMI, zatímco zvýšená hodnota ALP a iniciální MMF mají protektivní účinek. Mezi nezávislé potransplantační faktory významné steatózy patří vyšší BMI, hladina sérových TG, konzumace alkoholu a přítomnost T2DM, zatímco vyšší hladina sérového kreatininu má protektivní účinek. Nezávislým rizikovým faktorem steatohepatitidy po LT je ženské pohlaví. Steatóza jaterního štěpu je zpravidla součástí NAFLD, abúzus alkoholu po LT je výjimečný (2,2 % pacientů s významnou steatózou).
3. Přítomnost významné steatózy/steatohepatitidy po LT nebyla v našem souboru doprovázena vyšším stupněm fibrózy. U pacientů s významnou steatózou došlo následně k častější progresi fibrózy, interval mezi biopsiemi byl však delší než u kontrolní skupiny. Výskyt steatózy byl srovnatelný u funkčních a selhaných štěpů.
4. Mezi přežíváním pacientů s významnou steatózou a pacientů se steatózou stupně 0-1 nebyl v našem souboru významný rozdíl, pacienti s významnou steatózou však měli patrný trend k horšímu dlouhodobému přežívání (81,3 % versus 89,0 % v 10 letech a 56,2 % versus 74,6 % v 15 letech po LT) a trend k vyšší kardiovaskulární mortalitě, jaterní mortalita se mezi skupinami nelišila.

5.2. Zhodnocení významu genotypů *TM6SF2* rs58542926 a *PNPLA3* rs738409 dárce a příjemce v patofyziologii steatózy po LT

1. Výskyt *TM6SF2* rs58542926 AA homozygotů je vyšší mezi příjemci LT než v obecné populaci, frekvence genotypů *TM6SF2* rs58542926 u dárců a v obecné populaci jsou srovnatelné. Mezi frekvencemi genotypů *PNPLA3* rs738409 příjemců, dárců a v obecné populaci jsme nalezeny významné rozdíly.
2. Alely *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G dárce mají nezávislý vliv na zvýšený obsah jaterního tuku po LT, význam genotypů příjemce jsme neprokázali. Obsah jaterního tuku je primárně ovlivněn jaterní expresí hypomorfních variant *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G, nikoliv mimojaterní expresí.
3. Účinky alel *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G dárce na obsah jaterního tuku po LT jsou aditivní.
4. Účinky alel *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G dárce významně stoupají s vyšším BMI příjemce.
5. Alely *TM6SF2* c.499A a *PNPLA3* c.444G dárce a alela *PNPLA3* c.444G příjemce jsou asociovány s vyšším NAS v hodnocené biopsii.

5.3. Zhodnocení významu inzulinové rezistence pro vznik a progresi NAFLD po LT

1. IR definovanou jako HOMA-IR $\geq 3,0$ mělo 41,3 % pacientů před LT. IR významně narůstá s dobou od LT (25,4 % v 6M, 34,9 % v 1R a 46,0 % 2R po LT).
2. Předtransplantační HOMA-IR koreluje s věkem, přítomností metabolického syndromu a indikací k LT s nejvyššími hodnotami u NASH a HCV cirhózy, nekoreluje s množstvím jaterního tuku před LT dle ^1H MRS.
3. HOMA-IR hodnocený 2R po LT koreluje s BMI, přítomností metabolického syndromu a jeho složek (obvod pasu, DM, hypertenze) a GGT. Nárůst prevalence IR v období prvních dvou let po LT je doprovázen nárůstem BMI a obvodu pasu, výskyt metabolického syndromu, DM a hypertenze je stabilní, hodnoty GGT v čase klesají. Neprokázáli jsme vliv imunosupresivní medikace, podávání kortikoidů a jejich dávky nebo podávání statinů na potransplantační IR.
4. HOMA-IR hodnocený 2R po LT koreluje s množstvím jaterního tuku hodnoceného histologicky i pomocí ^1H MRS, se stupněm balónové degenerace a hraničně i zánětlivých změn v biopsii štěpu a s hodnotami tuhosti jater dle shear wave elastografie. Pozorovali jsme i trend nárůstu HOMA-IR s rostoucím histologickým stupněm fibrózy. Nárůst prevalence IR v období prvních dvou let po LT je doprovázen nárůstem množství jaterního tuku dle ^1H MRS.

6. Seznam publikací a prezentací k tématu disertace

6.1. Publikace

1. Hejlova I, Honsova E, Sticova E, Lanska V, Hucl T, Spicak J, Jirsa M, Trunecka P. **Prevalence and risk factors of steatosis after liver transplantation and patient outcomes.** Liver Transplant. 2016;22(5):644-655. doi:10.1002/lt.24393. **IF=3,910, citováno 14x**
2. Míková I, Neřoldová M, Hubáček JA, Dlouhá D, Jirsa M, Honsová E, Sticová E, Lánská V, Špičák J, Trunečka P. . **Donor PNPLA3 and TM6SF2 Variant Alleles Confer Additive Risks for Graft Steatosis After Liver Transplantation.** Transplantation. 2020;104(3):526-534. doi:10.1097/TP.0000000000002876. **IF 4,939, citováno 5x.**
3. Míková I, Erhartová D, Dvořáková K, Šedivý P, Drobný M, Dezortová M, Hájek M, Cahová M, Daňková H, Sticová E, Lánská V, Trunečka P. **Vývoj insulinové resistance po transplantaci jater- prospektivní studie.** Gastroenterologie a hepatologie 2019;73(4):287-295. Bez IF.

6.2. Kapitoly v monografii

1. Trunečka P, Hejlová I. **Nealkoholová steatóza a steatohepatitida.** In: P. HŮLEK, P. URBÁNEK ed. Hepatologie. 3. vyd. Praha: Grada Publishing, 2018, s. 377-389. ISBN 978-80-271-0394-2.
2. Hejlová I. **Nealkoholická tuková nemoc jater.** In: J. ŠPIČÁK. Novinky v gastroenterologii a hepatologii II. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2017, s. 213-229. ISBN 978-80-271-0318-8.

6.3. Prezentace

Ústní prezentace

1. Hejlová, I., Neřoldová, M., Hubáček, J., Dlouhá, D., Kolesár, L., Jirsa, M., Honsová, E., Sticová, E., Lánská, V., Špičák, J., Trunečka, P. **Donor TM6SF2 rs58542926 genotype is an independent risk factor for development of steatosis after liver transplantation.** 67th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). Boston, US, 11.11.2016 - 15.11.2016. Zorg. American Association for the Study of Liver Diseases. Hepatology. 2016, 63(1 suppl.), 545A. ISSN 0270-9139.
2. Hejlová, I., Neřoldová, M., Hubáček, J., Dlouhá, D., Kolesár, L., Jirsa, M., Honsová, E., Sticová, E., Lánská, V., Trunečka, P. **Dárcovský TM6SF2 rs58542926 genotyp je nezávislým faktorem rozvoje steatózy po transplantaci jater.** XLIV. májové hepatologické dny. Karlovy Vary, CZ, 25.05.2016 - 27.05.2016. Zorg. Česká hepatologická společnost ČLS JEP. Gastroenterologie a hepatologie. 2016, 70(S1), 1S13. ISSN 1804-7874.
3. Hejlová, I. **Nealkoholická steatóza.** XLIV. májové hepatologické dny. Karlovy Vary, CZ. 25.05.2016 - 27.05.2016. Zorg. Česká hepatologická společnost.
4. Hejlová, I., Poledne, R., Hubáček, J., Dlouhá, D., Jirsa, M., Honsová, E., Janečková, L., Trunečka, P. **Dárcovský genotyp PNPLA3 rs738409 je nezávislým faktorem rozvoje potransplantační steatózy u pacientů po transplantaci jater.** XLIII. májové

hepatologické dny. Karlovy Vary, CZ, 27.05.2015 - 29.05.2015. Zörg. Česká hepatologická společnost ČLS JEP. Gastroenterologie a hepatologie. 2015, 69(Suppl. 1), 14-15. ISSN 1804-7874.

5. Hejlová, I., Honsová, E., Lánská, V., Trunečka, P. **Significant liver graft steatosis is associated with worse patient and graft survival after third year posttransplant.** 16th ESOT Congress. Vienna, AT, 08.09.2013 - 11.09.2013. Zörg. European Society for Organ Transplantation. Transplant international. 2013, 26(Supplement 2), 87. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.
6. Trunečka, P., Hejlová, I., Honsová, E., Lánská, V., Kieslichová, E., Froněk, J. **Liver allograft steatosis impacts on patient survival after liver transplantation. A protocol biopsy based case-control study.** 63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). Boston, US, 09.11.2012 - 13.11.2012. Hepatology. 2012, 56(suppl. 1), 498A-498A. ISSN 0270-9139.
7. Hejlová, I., Honsová, E., Lánská, V., Trunečka, P. **Prevalence steatózy po transplantaci jater a rizikové faktory jejího vzniku.** XL. májové hepatologické dny. Karlovy Vary, CZ, 16.05.2012 - 18.05.2012. Zörg. Česká hepatologická společnost ČLS JEP. Gastroenterologie a hepatologie. 2012, 66(S1), S23. ISSN 1804-7874.
8. Hejlová, I., Honsová, E., Lánská, V., Trunečka, P. **Risk factors for development of liver graft steatosis and its impact on patient and graft survival.** American Transplant Congress. Boston, US, 02.06.2012 - 06.06.2012. Zörg. American Society of Transplantation. American journal of transplantation. 2012, 12(suppl. 3), 146-147. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.
9. Hejlová, I., Honsová, E., Lánská, V., Trunečka, P. **Steatóza po transplantaci jater.** 16. hradecké gastroenterologické a hepatologické dny. Hradec Královce, CZ. 09.03.2012 - 10.03.2012. Zörg. Lékařská fakulta UK Hradec Králové.

Postery

1. Míková, I., Erhartová, D., Šedivý, P., Drobný, M., Dezortová, M., Hájek, M., Cahová, M., Daňková, H., Sticová, E., Lánská, V., Špičák, J., Trunečka, P. **Prevalence of insulin resistance in patients before and after liver transplantation, and its progression during the follow-up.** A prospective study. Poster. 29th United European Gastroenterology Week Virtual 2021. virtual, 03.10.2021 - 05.10.2021. United European gastroenterology journal. 2021, 9(S8), 700-701, P0737. ISSN 2050-6406. e-ISSN 2050-6414.
2. Míková, I., Erhartová, D., DVOŘÁKOVÁ, K., Šedivý, P., Drobný, M., Dezortová, M., Hájek, M., Cahová, M., Daňková, H., Sticová, E., Lánská, V., Trunečka, P. **Progression of Insulin Resistance after Liver Transplantation Prospective Study.** American Transplant Congress (ATC). 30.05.2020 - 01.06.2020. American journal of transplantation. 2020, 20(Supplement 3), 1116-1116. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.
3. Míková, I., Neřoldová, M., Hubáček, J., Dlouhá, D., Jirsa, M., Honsová, E., Sticová, E., Lánská, V., Špičák, J., Trunečka, P. **Donor genotyping could assist in prevention of NAFLD progression after liver transplantation.** 19th Congress of the European Society for Organ Transplantation. Copenhagen, DK, 15.09.2019 - 18.09.2019. Zörg. European Society for Organ Transplantation. Transplant international. 2019, 32(Supplement 2), 68-68, abstr. no. OS223. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

4. Míková, I., Neřoldová, M., Hubáček, J., Dlouhá, D., Jirsa, M., Honsová, E., Sticová, E., Lánská, V., Špičák, J., Trunečka, P. **Genotypizace dárce může pomoci v prevenci progresu NAFLD po transplantaci jater.** XLVII. májové hepatologické dny. Plzeň, CZ, 15.05.2019 - 17.05.2019. Zorg. Česká hepatologická společnost ČLS JEP. Gastroenterologie a hepatologie. 2019, 73(Supplement 1), 35. ISSN 1804-7874. e-ISSN 1804-803X.
5. Míková, I., Neřoldová, M., Hubáček, J., Dlouhá, D., Kolesár, L., Jirsa, M., Honsová, E., Sticová, E., Lánská, V., Špičák, J., Trunečka, P. **Donor TM6SF2 rs58542926 genotype is a risk factor for liver graft steatosis.** American Transplant Congress. Seattle, US, 02.06.2018 - 06.06.2018. American journal of transplantation. 2018, 18(Supplement 4), 555, abstr. no. A232. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.
6. Míková, I., Neřoldová, M., Hubáček, J., Dlouhá, D., Jirsa, M., Honsová, E., Sticová, E., Lánská, V., Špičák, J., Trunečka, P. **Donor TM6SF2 rs58542926 genotype modifies the risk for graft steatosis after liver transplantation.** Poster. II. kongres Společnosti pro orgánové transplantace ČLS JEP. Špindlerův Mlýn, CZ. 04.04.2018 - 07.04.2018. Zorg. Česká lékařská společnost JEP.
7. Hejlová, I., Neřoldová, M., Hubáček, J., Dlouhá, D., Kolesár, L., Jirsa, M., Honsová, E., Sticová, E., Lánská, V., Špičák, J., Trunečka, P. **Donor TM6SF2 RS58542926 genotype is an independent risk factor for development of steatosis after liver transplantation.** Poster. 24th UEG Week. Vienna, AT. 15.10.2016 - 19.10.2016. Zorg. United European Gastroenterology.

7. Seznam ostatních publikací a prezentací

7.1. Publikace

Publikace s IF

1. Burian M, Hajek M, Sedivy P, Mikova I, Trunecka P, Dezortova M. **Lipid Profile and Hepatic Fat Content Measured by ¹H MR Spectroscopy in Patients before and after Liver Transplantation.** *Metabolites*. 2021 Sep 15;11(9):625. doi: 10.3390/metabo11090625. **IF 4,932, citováno 0x.**
2. Erhartova D, Cahova M, Dankova H, Heczko M, Mikova I, Sticova E, Spicak J, Seda O, Trunecka P. **Serum miR-33a is associated with steatosis and inflammation in patients with non-alcoholic fatty liver disease after liver transplantation.** *PLoS One*. 2019 Nov 8;14(11):e0224820. doi: 10.1371/journal.pone.0224820. eCollection 2019. **IF 2,740, citováno 3x.**
3. Šeda O, Cahová M, Miková I, Šedová L, Daňková H, Heczková M, Brátová M, Ďásková N, Erhartová D, Čapek V, Chylíková B, Trunečka P. **Hepatic Gene Expression Profiles Differentiate Steatotic and Non-steatotic Grafts in Liver Transplant Recipients.** *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Apr 30;10:270. doi: 10.3389/fendo.2019.00270. eCollection 2019. **IF 3,644, citováno 4x.**
4. Trunečka P, Miková I, Dlouhá D, Hubáček JA, Honsová E, Kolesár L, Lánská V, Fraňková S, Šperl J, Jirsa M, Poledne R. **Donor PNPLA3 rs738409 genotype is a risk factor for graft steatosis. A post-transplant biopsy-based study.** *Dig Liver Dis*. 2018 May;50(5):490-495. doi: 10.1016/j.dld.2017.12.030. Epub 2018 Jan 9. **IF 3,037, citováno 7x.**
5. Herynek V, Wagnerová D, Hejlová I, Dezortová M, Hájek M. **Changes in the brain during long-term follow-up after liver transplantation.** *J. Magn. Reson. Imaging* 2012;35:1332–1337. **IF 2,566, citováno 6x.**
6. Hájek M, Dezortová M, Wagnerová D, Skoch A, Voska L, Hejlová I, Trunečka P. **MR spectroscopy as a tool for in vivo determination of steatosis in liver transplant recipients.** *MAGMA* 2011;24:297–304. **IF 1,883, citováno 8x.**

Publikace bez IF

1. Miková I, Kyselová D, Kautznerová D, Tupý M, Kysela M, Lánská V, Špičák J, Froněk J, Trunečka P. **Význam sarkopenie a myosteatózy u kandidátů transplantace jater na peritransplantační průběh a přežívání pacientů a štěpů.** *Gastroenterologie a Hepatologie* 2021; 75(4): 311–322. doi:10.48095/ccgh2021311
2. Hejlová I, Dezortova M, Šedivý P, Drobný M, Hájek M, Cahová M, Daňková H, Sticová E, Lánská V, Trunečka P. **Metabolický profil pacientů po transplantaci jater ve vztahu k rozvoji NAFLD - výsledky pilotní studie.** *Gastroenterologie. a Hepatologie*. 2016;70:325–330.
3. Hejlová I, **Spolupráce transplantačního centra s VPL u pacientů před a po transplantaci jater.** *Practicus (Praha)*. 2016; 15(1): 8-9.
4. Hejlová I, Komrsková J, Sticová E, Trunečka P, Špičák J, Franeková J. **Makro-AST jako příčina izolované chronicky zvýšené aktivity AST - Popis dvou případů** *Gastroenterol. a Hepatol*. 2016;70:138–140.

5. Hejlová I. **Olysio(R) (simeprevir)**. Gastroenterologie a hepatologie. 2016, 70(4), 368-370.
6. Komrsková J, Hejlová I, Kubíček Z, Bartošová K, Jabor A, Franeková J. **Prukaz makro AST v běžné klinické praxi**. Klin. Biochem. a Metab. 2015;23:171–174.
7. Trunečka P, Froněk J, Janoušek L, Oliverius M, Kučera M, Kieslichová E, Ročeň M Špičák J, Šperl J, Gottfriedová H, Fraňková S, Drastich P, Hejlová I, Pokorná E, Honsová E, Peregrin J, Lánská V, Hačkajlo D, Janečková L, Herman A. **Prvních 1 000 transplantací jater v IKEM**. Gastroenterologie a Hepatologie 2013;67:399–406.
8. Hejlová I, Špičák J. **Klasifikace varixů jícnu a žaludku**. Gastroenterológia pre prax. 2012;11(2): 64-68.
9. Hájek M, Dezortová M, Wagnerová D, Voska L, Hejlová I, Trunečka P. **Stanovení obsahu jaterního tuku metodou 1H MR spektroskopie**. Časopis lékařů českých. 2011, 150(1), 68-71
10. Hejlová I, Adamec M, Kotalová R, Prchlik M, Kieslichová E, Špičák J, Trunečka P. **Transplantace jater u dětí**. Praktický lékař. 2010; 90(7): 436-439.
11. Hejlová I, Oliverius M, Honsová E, Kautznerová D, Filipová H, Šperl J, Špičák J, Trunečka P. **Absces jater při asymptomatické perforující divertikulitidě imitující maligní nádor jater**. Praktický lékař. 2008; 88(8): 474-477.
12. Hejlová I, Šperl J, Fraňková s, Kamenář D, Sticová E, Špičák J, Šperl J. **Akutní toxická hepatitida po bylinném přípravku**. Praktický lékař. 2008, 88(2), 108-110.

7.2. Prezentace

Ústní prezentace

1. Erhartová, D., Cahová, M., Míková, I., Sticová, E., Špičák, J., Trunečka, P. **Relativní exprese sérové MIR-33A je asociována se steatózou a lobulárním zánětem u pacientů s nealkoholovou tukovou chorobou jater**. XLVII. májové hepatologické dny. Plzeň, CZ. 15.05.2019 - 17.05.2019. Zorg. Česká hepatologická společnost ČLS JEP. In: XLVII. májové hepatologické dny : programový sborník s abstrakty. Praha: Česká hepatologická společnost, 2019, s. 23. ISBN 978-80-906981-1-6.
2. Šeda, O., Šedová, L., Cahová, M., Míková, I., Dezortová, M., Hájek, M., Trunečka, P. **Systémově biologická analýza steatózy u transplantovaných jaterních štěpů**. XXII. kongres o ateroskleróze. Olomouc, CZ, 06.12.2018 - 08.12.2018. Zorg. Česká společnost pro aterosklerózu. Vnitřní lékařství [online]. 2018, 64(12, Suppl. 2), 2S27, abstr. č. 49US. ISSN 1801-7592.
3. Trunečka, P., Hejlová, I., Erhartová, D., Dlouhá, D., Hubáček, J., Honsová, E., Lánská, V., Fraňková, S., Šperl, J., Jirsa, M., Poledne, R. **Donor PNPLA3 rs738409 genotype is a risk factor for graft steatosis. A post-transplant biopsy-based study**. Joint International Congress of ILTS, ELITA and LICAGE. Lisbon, PT, 23.05.2018 - 26.05.2018. Zorg. International Liver Transplantation Society. Transplantation. 2018, 102(Supplement 5), 56-57, abstr. no. O-099. ISSN 0041-1337.
4. Šedivý, P., Drobný, M., Dezortová, M., Hejlová, I., Cahová, M., Trunečka, P., Hájek, M. **Effect of liver transplantation on muscle metabolism and the abdomen adipose tissue volume in diabetic and non-diabetic patients**. 25th Annual Meeting & Exhibition. Honolulu, US. 22.04.2017 - 27.04.2017. Zorg. ISMRM.

5. Hejlová, I. **Spolupráce transplantačního centra s VLP.** XXXIV. výroční konference Společnosti všeobecného lékařství ČLS JEP. Zlín, CZ. 11.11.2015 - 14.11.2015. Zorg. Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP.
6. Hejlová, I., Sticová, E., Trunečka, P., Franeková, J. **Makro-AST jako příčina déletrvající izolované elevace AST - popis dvou případů.** XLIII. májové hepatologické dny. Karlovy Vary, CZ, 27.05.2015 - 29.05.2015. Zorg. Česká hepatologická společnost ČLS JEP. Gastroenterologie a hepatologie. 2015, 69(Suppl. 1), 10. ISSN 1804-7874. e-ISSN 1804-803X.
7. Hejlová, I. **Akutní selhání jater.** XLIII. májové hepatologické dny. Karlovy Vary, CZ. 27.05.2015 - 29.05.2015. Zorg. Česká hepatologická společnost.
8. Hejlová, I., Sticová, E., Slavčev, A., Gottfriedová, H., Král, J., Froněk, J., Kieslichová, E., Špičák, J., Trunečka, P. **Graft vs. host disease je vzácná, potenciálně letální komplikace po transplantaci jater.** 33. český a slovenský gastroenterologický kongres. Praha, CZ, 12.11.2015 - 14.11.2015. Zorg. Česká gastroenterologická společnost. Gastroenterologie a hepatologie. 2015, 69(S2), 2S25-2S26, č. abstr. 37. ISSN 1804-7874.
9. Trunečka, P., Froněk, J., Janoušek, L., Oliverius, M., Kučera, M., Kieslichová, E., Ročeň, M., Špičák, J., Šperl, J., Gottfriedová, H., Fraňková, S., Drastich, P., Hejlová, I., Pokorná, E., Honsová, E., Peregrin, J., Lánská, V., Hačkajlo, D., Janečková, L., Herman, A. **Prvních 1000 transplantací jater v IKEM.** V. česko-slovenský transplantační kongres. Olomouc, CZ. 02.10.2014 - 04.10.2014. Zorg. Česká transplantační společnost, Slovenská transplantologická spoločnosť. In: V. česko-slovenský transplantační kongres: Program, Abstrakta. Praha: Česká transplantační společnost, 2014, s. 46, č. abstr. O-46.
10. Trunečka, P., Froněk, J., Janoušek, L., Oliverius, M., Kučera, M., Kieslichová, E., Ročeň, M., Špičák, J., Šperl, J., Gottfriedová, H., Fraňková, S., Drastich, P., Hejlová, I., Pokorná, E., Honsová, E., Peregrin, J., Lánská, V., Hačkajlo, D., Janečková, L., Herman, A. **Prvních 1 000 transplantací jater v IKEM.** XLII. májové hepatologické dny. Karlovy Vary, CZ, 28.05.2014 - 30.05.2014. Zorg. Česká hepatologická společnost ČLS JEP. Gastroenterologie a hepatologie. 2014, 68(S1), 1S13-1S14. ISSN 1804-7874.
11. Hejlová, I. **Neobvyklá nádorová onemocnění jako indikace k transplantaci jater.** XLII. májové hepatologické dny. Karlovy Vary, CZ. 28.05.2014 - 30.05.2014. Zorg. Česká hepatologická společnost.
12. Hejlová, I. **Komplikace jaterní cirhózy a jejich léčba.** XLI. májové hepatologické dny. Karlovy Vary, CZ. 15.05.2013 - 17.05.2013.
13. Hejlová, I. **Jaterní testy a možnosti posuzování a monitorování jaterních funkcí.** Biochemické monitorování nemocných v intenzivní a resuscitační péči. Brno, CZ. 14.11.2012 - 14.11.2012. Zorg. Česlá lékařská společnost JEP.
14. Hejlová, I. **Nežádoucí účinky léčiv.** XL. májové hepatologické dny. Karlovy Vary, CZ. 16.05.2012 - 18.05.2012. Zorg. Česká hepatologická společnost ČLS JEP.
15. Hejlová, I. **Changes in the brain more than 10 years after liver transplantation.** 2nd Hepatologist in a Liver Transplant. London, GB. 23.09.2011 - 25.09.2011. Zorg. European Society for Organ Transplantation. In: 2nd Hepatologist in a Liver Transplant : Programme and abstract book. 2011, s. 17.
16. Herynek, V., Wagnerová, D., Hejlová, I., Dezortová, M., Hájek, M. **Indirect proof of manganese deposition in the basal ganglia of patients with hepatic encephalopathy.**

- 28th Annual Scientific Meeting of ESMRMB 2011. Leipzig, DE. 06.10.2011 - 08.10.2011. Zorg. European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology. In: ESMRMB 2011 Congress. Book of Abstracts. [CD-ROM]. 2011, s. 283, abstr. no. 396.
17. Herynek, V., Dezortová, M., Wagnerová, D., Hejlová, I., Hájek, M. **Changes in the brain more than 10 years after liver transplantation.** ISMRM 19th Annual Meeting and Exhibition. Montreal, CA, 07.05.2011 - 13.05.2011. Zorg. International Society for Magnetic Resonance in Medicine. Proceedings of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine. Scientific Meeting and Exhibition. 2011, abstr. no. 2448. ISSN 1545-4428.
 18. Hájek, M., Dezortová, M., Wagnerová, D., Škoch, A., Voska, L., Hejlová, I., Trunečka, P. **MR spectroscopy as a tool for in vivo determination of steatosis in liver transplant recipients.** International Workshop 'Magnetic Resonance Studies'. Třešť, Czech Republic. 06.06.2011 - 08.06.2011. Zorg. Charles University, 2nd Faculty of Medicine.
 19. Hejlová, I. **Reaktivace hepatitidy B jako komplikace léčby lymfou s následným akutním selháním jater řešeným ortopticku transplantací jater.** Olomouc kazuistická. Olomouc, CZ. 03.11.2011.
 20. Herynek, V., Wagnerová, D., Hejlová, I., Dezortová, M., Hájek, M. **Změny v bazálních gangliích pacientů v dlouhodobém horizontu po transplantaci jater.** 15. vědecké zasedání MR sekce. Harrachov, CZ. 14.03.2011 - 16.03.2011. Zorg. MR sekce České radiologické společnosti.
 21. Herynek, V., Wagnerová, D., Hejlová, I., Dezortová, M., Hájek, M. **Changes in the brain during long-term follow-up after liver transplantation.** International Workshop 'Magnetic Resonance Studies'. Třešť, CZ. 06.06.2011 - 08.06.2011. Zorg. Charles University, 2nd Faculty of Medicine.
 22. Hájek, M., Dezortová, M., Škoch, A., Wagnerová, D., Hejlová, I., Trunečka, P., Voska, L. **Kvantitativní stanovení tuku v lidských játrech pomocí in vivo 1H MR spektroskopie.** Pilotní studie. 14. vědecké zasedání MR sekce ČRS. Harrachov, CZ. 15.03.2010 - 17.03.2010. In: 14. vědecké zasedání MR sekce ČRS. Sborník abstrakt. B.m.: b.n., 2010, s. 16.
 23. Hejlová, I., Petrášek, J., Šperl, J., Fraňková, S., Adamec, M., Peregrin, J., Honsová, E., Špičák, J., Trunečka, P. **Budd-Chiariho syndrom jako indikace k transplantaci jater.** 36. Májové hepatologické dny. Karlovy Vary, CZ, 14.05.2008 - 16.05.2008. Zorg. Česká hepatologická společnost ČLS JEP. Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie. 2008, 62(2), 119. ISSN 1213-323X.
 24. Petrášek, J., Hejda, V., Šperl, J., Hejlová, I., Špičák, J., Jirsa, M. **Temporary nasobiliary drainage induces relief from severe long-lasting pruritus in drug-induced canalicular cholestasis.** 43rd Annual Meeting of the European-Association for the Study of the Liver. Milan, IT, 23.04.2008 - 27.04.2008. Zorg. European Association for the Study on the Liver. Journal of hepatology. 2008, 48(2), S329. ISSN 0168-8278.
 25. Hejlová, I., Sticová, E., Fraňková, S., Kamenář, D., Šperl, J. **Akutní toxická hepatitida po bylinných extraktech (popis případu).** Májové hepatologické dny 2007. Karlovy Vary, CZ, 09.05.2007 - 12.05.2007. Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie. 2007, 61(3, suppl.), 178. ISSN 1213-323X.

Postery

1. Erhartová, D., Míková, I., Kautznerová, D., Tupý, M., Dezortová, M., Šedivý, P., Kysela, M., Lánská, V., Froněk, J., Hájek, M., Trunečka, P. **Výskyt a význam sarkopenie a myosteatózy u kandidátů transplantace jater.** XLVIII. májové hepatologické dny. online. 12.05.2021 - 14.05.2021. Zorg. Česká hepatologická společnost ČLS JEP. In: XLVIII. májové hepatologické dny: programový sborník s abstrakty. Praha: Česká hepatologická společnost, 2021, s. 44, 46. ISBN 978-80-906981-3-0.
2. Erhartová, D., Míková, I., Kautznerová, D., Tupý, M., Dezortová, M., Šedivý, P., Kysela, M., Lánská, V., Špičák, J., Froněk, J., Hájek, M., Trunečka, P. **Prevalence and clinical impact of sarcopenia and myosteatosi s in liver transplant candidates.** Poster. 29th United European Gastroenterology Week Virtual 2021. virtual, 03.10.2021 - 05.10.2021. United European gastroenterology journal. 2021, 9(S8), 682, P0698. ISSN 2050-6406. e-ISSN 2050-6414.
3. Burian, M., Drobný, M., Šedivý, P., Dezortová, M., Ibrahim, I., Hejlová, I., Hájek, M., Trunečka, P. **Is the hepatic fatty-acid chain length dependent on the hepatic fat content?** Poster. ESMRMB 2019 Congress. Rotterdam, NL, 03.10.2019 - 05.10.2019. Magnetic resonance materials in physics, biology and medicine [online]. 2019, 32(Supplement 1), S387-S388, P01.20. ISSN 1352-8661.
4. Erhartová, D., Cahová, M., Míková, I., Sticová, E., Špičák, J., Trunečka, P. **Serum mir-33a is associated with liver steatosis and inflammation in liver transplant recipients.** Poster. 19th Congress of the European Society for Organ Transplantation. Copenhagen, DK, 15.09.2019 - 18.09.2019. Zorg. European Society for Organ Transplantation. Transplant international. 2019, 32(Supplement 2), 338, abstr. no. PO092. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.
5. Krupková, M., Šeda, O., Šedová, L., Chylíková, B., Hejlová, I., Dezortová, M., Hájek, M., Cahová, M., Trunečka, P. **Transkriptomické koreláty steatózy u transplantovaných jaterních štěpů.** Poster. XXI. kongres o ateroskleróze: Sborník abstrakt. Olomouc, CZ, 07.12.2017 - 09.12.2017. Zorg. Česká společnost pro aterosklerózu. Atheroreview. 2018, 3(1), 70, č. abstr. 23PS. ISSN 2464-6555. e-ISSN 2464-6563.
6. Sedová, L., Chylíková, B., Hejlová, I., Dezortová, M., Hájek, M., Cahová, M., Seda, O., Trunečka, P. **Transcriptomic profiling of transplanted hepatic grafts in relation to non-alcoholic fatty liver disease.** 85th Congress of the European Atherosclerosis Society (EAS). Prague, CZ, 23.04.2017 - 26.04.2017. Zorg. European Atherosclerosis Society. Atherosclerosis. 2017, 263(August), E261, abstr. no. PO492. ISSN 0021-9150. e-ISSN 1879-1484.
7. Šedivý, P., Drobný, M., Dezortová, M., Hejlová, I., Cahová, M., Dráb, M., Trunečka, P., Hájek, M. **Hepatic steatosis in patients after liver transplantation.** ESMRMB 2017 Congress. Barcelona, ES, 19.10.2017 - 21.10.2017. Magnetic resonance materials in physics, biology and medicine [online]. 2017, 81(Supplement 1), S141, art. no. 145. ISSN 1352-8661.
8. Šedivý, P., Drobný, M., Dezortová, M., Hejlová, I., Cahová, M., Trunečka, P., Hájek, M. **Effect of liver transplantation on muscle metabolism and the abdomen adipose tissue volume in diabetic and non-diabetic patients.** 25th Annual Meeting & Exhibition. Honolulu, US. 22.04.2017 - 27.04.2017. Zorg. ISMRM.

9. Král, J., Hucl, T., Štirand, P., Martínek, J., Beneš, M., Wohl, P., Hejlová, I., Kamenář, D., Špičák, J. **Kvalita přípravy před kolonoskopickým vyšetřením přípravkem EZICLEN.** Poster. 13. vzdělávací a diskuzní gastroenterologické dny. Karlovy Vary, CZ, 04.12.2014 - 06.12.2014. Zorg. Česká gastroenterologická společnost ČLS JEP, Česká asociace sester, sekce gastroenterologická. Gastroenterologie a hepatologie. 2014, 68(S2), 2S35. ISSN 1804-7874.
10. Mačinga, P., Hejlová, I., Hucl, T., Honsová, E., Froněk, J., Špičák, J., Trunečka, P., Oliverius, M. **Ischemická cholangiopatie u pacienta s trombózou AH po transplantaci jater – terapeutické dilema.** Poster. 13. vzdělávací a diskuzní gastroenterologické dny. Karlovy Vary, CZ, 04.12.2014 - 06.12.2014. Zorg. Česká gastroenterologická společnost ČLS JEP, Česká asociace sester, sekce gastroenterologická. Gastroenterologie a hepatologie. 2014, 68(S2), 2S24. ISSN 1804-7874.
11. Poledne, R., Jirsa, M., Hejlová, I., Fraňková, S., Trunečka, P., Dlouhá, D., Kolesár, L., Hubáček, J., Honsová, E., Lánská, V. **Extrahepatic effect of adiponutrin gene on liver steatosis.** 82nd Congress of the European-Atherosclerosis-Society (EAS). Madrid, ES, 31.05.2014 - 03.06.2014. Zorg. European Atherosclerosis Society. Atherosclerosis. 2014, 235(2), E31-E32. ISSN 0021-9150. e-ISSN 1879-1484.
12. Hejlová, I., Prchlík, M., Kotalová, R., Kieslichová, E., Fraňková, S., Janoušek, L., Oliverius, M., Adamec, M., Špičák, J., Trunečka, P. **Transplantace jater u dětí v IKEM 1995-6/2009.** Poster. III. česko-slovenský transplantační kongres. Špindlerův Mlýn, CZ. 16.09.2010 - 18.09.2010. Zorg. Česká a Slovenská transplantační společnost. In: III. česko-slovenský transplantační kongres. B.m.: Česká transplantační společnost, 2010, s. 70, č. abstr. P-42.
13. Hejlová, I., Petrášek, J., Šperl, J., Fraňková, S., Adamec, M., Trunečka, P., Vítko, Š., Špičák, J. **Budd-Chiariho syndrom jako indikace k transplantaci jater.** Poster. 31. český a slovenský gastroenterologický a hepatologický kongres s mezinárodní účastí. Brno, CZ, 06.09.2007 - 08.09.2007. Zorg. Čes. a slov. gastroenterol. a hepatol. spol.. Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie. 2007, 61(suppl. 2), 54. ISSN 1213-323X.

8. Literatura

1. EASL. EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2016;64:1388-1402. doi:10.1007/s00125-016-3910-y
2. Spitzer AL, Lao OB, Dick AAS, et al. The biopsied donor liver: incorporating macrosteatosis into high-risk donor assessment. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc.* 2010;16(7):874-884. doi:10.1002/lt.22085
3. Calori G, Lattuada G, Ragogna F, et al. Fatty liver index and mortality: The cremona study in the 15th year of follow-up. *Hepatology.* 2011;54(1):145-152. doi:10.1002/hep.24356
4. Haldar D, Kern B, Hodson J, et al. Outcomes of liver transplantation for non-alcoholic steatohepatitis: A European Liver Transplant Registry study. *J Hepatol.* 2019;71(2):313-322. doi:10.1016/j.jhep.2019.04.011
5. Hoyumpa AMJ, Greene HL, Dunn GD, Schenker S. Fatty liver: biochemical and clinical considerations. *Am J Dig Dis.* 1975;20(12):1142-1170. doi:10.1007/BF01070758
6. FOLCH J, LEES M, SLOANE STANLEY GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem.* 1957;226(1):497-509.
7. Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, et al. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005;288(2):E462-8. doi:10.1152/ajpendo.00064.2004
8. Thomsen C, Becker U, Winkler K, Christoffersen P, Jensen M, Henriksen O. Quantification of liver fat using magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Imaging.* 1994;12(3):487-495. doi:10.1016/0730-725x(94)92543-7
9. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2005;41(6):1313-1321. doi:10.1002/hep.20701
10. McPherson S, Jonsson JR, Cowin GJ, et al. Magnetic resonance imaging and spectroscopy accurately estimate the severity of steatosis provided the stage of fibrosis is considered. *J Hepatol.* 2009;51(2):389-397. doi:10.1016/j.jhep.2009.04.012
11. Krssák M, Hofer H, Wrba F, et al. Non-invasive assessment of hepatic fat accumulation in chronic hepatitis C by 1H magnetic resonance spectroscopy. *Eur J Radiol.* 2010;74(3):e60-6. doi:10.1016/j.ejrad.2009.03.062
12. Longo R, Pollesello P, Ricci C, et al. Proton MR spectroscopy in quantitative in vivo determination of fat content in human liver steatosis. *J Magn Reson Imaging.* 1995;5(3):281-285. doi:10.1002/jmri.1880050311
13. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology.* 2012;55(6):2005-2023. doi:10.1002/hep.25762
14. Yki-Järvinen H. Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of

- metabolic syndrome. *lancet Diabetes Endocrinol.* 2014;2(11):901-910. doi:10.1016/S2213-8587(14)70032-4
15. Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J Hepatol.* 2020;73(1):202-209. doi:10.1016/j.jhep.2020.03.039
 16. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: The epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;34(3):274-285. doi:10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x
 17. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology.* 2016;64(1):73-84. doi:10.1002/hep.28431
 18. Younossi Z, Stepanova M, Afendy M, et al. Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2011;9(6):524-530. doi:10.1016/j.cgh.2011.03.020
 19. Germani G, Laryea M, Rubbia-Brandt L, et al. Management of Recurrent and De Novo NAFLD/NASH After Liver Transplantation. *Transplantation.* 2019;103(1):57-67. doi:10.1097/TP.0000000000002485
 20. Cotter TG, Charlton M. Nonalcoholic Steatohepatitis After Liver Transplantation. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc.* 2020;26(1):141-159. doi:10.1002/lt.25657
 21. Clark JM, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease: an underrecognized cause of cryptogenic cirrhosis. *JAMA.* 2003;289(22):3000-3004. doi:10.1001/jama.289.22.3000
 22. Caldwell SH, Lee VD, Kleiner DE, et al. NASH and cryptogenic cirrhosis: a histological analysis. *Ann Hepatol.* 2009;8(4):346-352.
 23. Malik SM, DeVera ME, Fontes P, Shaikh O, Sasatomi E, Ahmad J. Recurrent disease following liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis cirrhosis. *Liver Transplant.* 2009;15(12):1843-1851. doi:10.1002/lt.21943
 24. Bhati C, Idowu MO, Sanyal AJ, et al. Long-term Outcomes in Patients Undergoing Liver Transplantation for Nonalcoholic Steatohepatitis-Related Cirrhosis. *Transplantation.* 2017;101(8):1867-1874. doi:10.1097/TP.0000000000001709
 25. Yalamanchili K, Saadeh S, Klintmalm GB, Jennings LW, Davis GL. Nonalcoholic fatty liver disease after liver transplantation for cryptogenic cirrhosis or nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc.* 2010;16(4):431-439. doi:10.1002/lt.22004
 26. Dureja P, Mellinger J, Agni R, et al. NAFLD recurrence in liver transplant recipients. *Transplantation.* 2011;91(6):684-689. doi:10.1097/TP.0b013e31820b6b84
 27. Contos MJ, Cales W, Sterling RK, et al. Development of nonalcoholic fatty liver disease after orthotopic liver transplantation for cryptogenic cirrhosis. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc.* 2001;7(4):363-373. doi:10.1053/jlts.2001.23011
 28. Losurdo G, Castellaneta A, Rendina M, Carparelli S, Leandro G, Di Leo A. Systematic

- review with meta-analysis: de novo non-alcoholic fatty liver disease in liver-transplanted patients. *Aliment Pharmacol Ther.* 2018;47(6):704-714. doi:10.1111/apt.14521
29. Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Lehrke M, Hendler RE, Shulman GI. Reversal of Nonalcoholic Hepatic Steatosis, Hepatic Insulin Resistance, and Hyperglycemia by Moderate Weight Reduction in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes.* 2005;54(3):603-608. doi:10.2337/diabetes.54.3.603
 30. Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *J Hepatol.* 2006;45(4):600-606. doi:10.1016/j.jhep.2006.06.013
 31. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, et al. Weight loss through lifestyle modification significantly reduces features of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology.* 2015;149(2):367-378.e5. doi:10.1053/j.gastro.2015.04.005
 32. Lassailly G, Caiazzo R, Buob D, et al. Bariatric surgery reduces features of nonalcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients. *Gastroenterology.* 2015;149(2):379-388. doi:10.1053/j.gastro.2015.04.014
 33. Lassailly G, Caiazzo R, Ntandja-Wandji L-C, et al. Bariatric Surgery Provides Long-term Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis and Regression of Fibrosis. *Gastroenterology.* 2020;159(4):1290-1301.e5. doi:10.1053/j.gastro.2020.06.006
 34. Ibrahim MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev an Off J Int Assoc Study Obes.* 2010;11(1):11-18. doi:10.1111/j.1467-789X.2009.00623.x
 35. Tchernof A, Després J-P. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiol Rev.* 2013;93(1):359-404. doi:10.1152/physrev.00033.2011
 36. Fabbrini E, Magkos F, Mohammed BS, et al. Intrahepatic fat, not visceral fat, is linked with metabolic complications of obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(36):15430-15435. doi:10.1073/pnas.0904944106
 37. Fabbrini E, Tamboli RA, Magkos F, et al. Surgical removal of omental fat does not improve insulin sensitivity and cardiovascular risk factors in obese adults. *Gastroenterology.* 2010;139(2):448-455. doi:10.1053/j.gastro.2010.04.056
 38. Dumortier J, Giostra E, Belbouab S, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in liver transplant recipients: Another story of seed and soil. *Am J Gastroenterol.* 2010;105(3):613-620. doi:10.1038/ajg.2009.717
 39. Galvin Z, Rajakumar R, Chen E, et al. Predictors of De Novo Nonalcoholic Fatty Liver Disease After Liver Transplantation and Associated Fibrosis. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc.* 2019;25(1):56-67. doi:10.1002/lt.25338
 40. Akarsu M, Bakir Y, Karademir S, Unek T, Bacakoglu A, Astarcioglu I. Prevalence and risk factors for obesity after liver transplantation: a single-center experience. *Hepat Mon.* 2013;13(8):e7569. doi:10.5812/hepatmon.7569
 41. van Son J, Stam SP, Gomes-Neto AW, et al. Post-transplant obesity impacts long-term survival after liver transplantation. *Metabolism.* 2020;106:154204. doi:10.1016/j.metabol.2020.154204

42. Charlton M, Rinella M, Patel D, McCague K, Heimbach J, Watt K. Everolimus Is Associated With Less Weight Gain Than Tacrolimus 2 Years After Liver Transplantation: Results of a Randomized Multicenter Study. *Transplantation*. 2017;101(12):2873-2882. doi:10.1097/TP.0000000000001913
43. Richards J, Gunson B, Johnson J, Neuberger J. Weight gain and obesity after liver transplantation. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2005;18(4):461-466. doi:10.1111/j.1432-2277.2004.00067.x
44. Terjimanian MN, Harbaugh CM, Hussain A, et al. Abdominal adiposity, body composition and survival after liver transplantation. *Clin Transplant*. 2016;30(3):289-294. doi:10.1111/ctr.12688
45. Abid A, Taha O, Nseir W, Farah R, Grosovski M, Assy N. Soft drink consumption is associated with fatty liver disease independent of metabolic syndrome. *J Hepatol*. 2009;51(5):918-924. doi:10.1016/j.jhep.2009.05.033
46. Sevastianova K, Santos A, Kotronen A, et al. Effect of short-term carbohydrate overfeeding and long-term weight loss on liver fat in overweight humans. *Am J Clin Nutr*. 2012;96(4):727-734. doi:10.3945/ajcn.112.038695
47. Luukkonen PK, Sädevirta S, Zhou Y, et al. Saturated Fat Is More Metabolically Harmful for the Human Liver Than Unsaturated Fat or Simple Sugars. *Diabetes Care*. 2018;41(8):1732-1739. doi:10.2337/dc18-0071
48. Ouyang X, Cirillo P, Sautin Y, et al. Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2008;48(6):993-999. doi:10.1016/j.jhep.2008.02.011
49. Lim JS, Mietus-Snyder M, Valente A, Schwarz J-M, Lustig RH. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010;7(5):251-264. doi:10.1038/nrgastro.2010.41
50. Abdelmalek MF, Suzuki A, Guy C, et al. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010;51(6):1961-1971. doi:10.1002/hep.23535
51. Parry SA, Rosqvist F, Mozes FE, et al. Intrahepatic Fat and Postprandial Glycemia Increase After Consumption of a Diet Enriched in Saturated Fat Compared With Free Sugars. *Diabetes Care*. 2020;43(5):1134-1141. doi:10.2337/dc19-2331
52. Anastácio LR, Ferreira SC. Nutrition, dietary intake, and eating behavior after liver transplantation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2018;21(5):381-387. doi:10.1097/MCO.0000000000000491
53. McCoy SM, Campbell KL, Lassemillante A-CM, et al. Changes in dietary patterns and body composition within 12 months of liver transplantation. *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2017;6(5):317-326. doi:10.21037/hbsn.2017.01.12
54. Ryu S, Chang Y, Jung H-S, et al. Relationship of sitting time and physical activity with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2015;63(5):1229-1237. doi:10.1016/j.jhep.2015.07.010
55. Bae JC, Suh S, Park SE, et al. Regular exercise is associated with a reduction in the risk of NAFLD and decreased liver enzymes in individuals with NAFLD independent of obesity in Korean adults. *PLoS One*. 2012;7(10):e46819.

doi:10.1371/journal.pone.0046819

56. Soman VR, Koivisto VA, Deibert D, Felig P, DeFronzo RA. Increased insulin sensitivity and insulin binding to monocytes after physical training. *N Engl J Med.* 1979;301(22):1200-1204. doi:10.1056/NEJM197911293012203
57. Johnson NA, Keating SE, George J. Exercise and the liver: implications for therapy in fatty liver disorders. *Semin Liver Dis.* 2012;32(1):65-79. doi:10.1055/s-0032-1306427
58. Kantartzis K, Thamer C, Peter A, et al. High cardiorespiratory fitness is an independent predictor of the reduction in liver fat during a lifestyle intervention in non-alcoholic fatty liver disease. *Gut.* 2009;58(9):1281-1288. doi:10.1136/gut.2008.151977
59. St George A, Bauman A, Johnston A, Farrell G, Chey T, George J. Independent effects of physical activity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2009;50(1):68-76. doi:10.1002/hep.22940
60. Masala D, Mannocci A, Unim B, et al. Quality of life and physical activity in liver transplantation patients: results of a case-control study in Italy. *Transplant Proc.* 2012;44(5):1346-1350. doi:10.1016/j.transproceed.2012.01.123
61. van Adrichem EJ, Dekker R, Krijnen WP, Verschuuren EAM, Dijkstra PU, van der Schans CP. Physical Activity, Sedentary Time, and Associated Factors in Recipients of Solid-Organ Transplantation. *Phys Ther.* 2018;98(8):646-657. doi:10.1093/ptj/pzy055
62. Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients.* 2013;5(5):1544-1560. doi:10.3390/nu5051544
63. Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008;294(1):E15-26. doi:10.1152/ajpendo.00645.2007
64. Kubota N, Kubota T, Kajiwara E, et al. Differential hepatic distribution of insulin receptor substrates causes selective insulin resistance in diabetes and obesity. *Nat Commun.* 2016;7:12977. doi:10.1038/ncomms12977
65. Than NN, Newsome PN. A concise review of non-alcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis.* 2015;239(1):192-202. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.001
66. Minehira K, Young SG, Villanueva CJ, et al. Blocking VLDL secretion causes hepatic steatosis but does not affect peripheral lipid stores or insulin sensitivity in mice. *J Lipid Res.* 2008;49(9):2038-2044. doi:10.1194/jlr.M800248-JLR200
67. Eslam M, Ampuero J, Jover M, et al. Predicting portal hypertension and variceal bleeding using non-invasive measurements of metabolic variables. *Ann Hepatol.* 2013;12(4):588-598.
68. Jeon HK, Kim MY, Baik SK, et al. Hepatogenous diabetes in cirrhosis is related to portal pressure and variceal hemorrhage. *Dig Dis Sci.* 2013;58(11):3335-3341. doi:10.1007/s10620-013-2802-y
69. Camma C, Petta S, Di Marco V, et al. Insulin resistance is a risk factor for esophageal varices in hepatitis C virus cirrhosis. *Hepatology.* 2009;49(1):195-203. doi:10.1002/hep.22655

70. Degre D, Gustot T, Gerkens A, et al. Insulin resistance is associated with esophageal varices in alcoholic liver disease patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2016;28(7):792-796. doi:10.1097/MEG.0000000000000627
71. Wallace TM, Matthews DR. The assessment of insulin resistance in man. *Diabet Med*. 2002;19(7):527-534. doi:10.1046/j.1464-5491.2002.00745.x
72. Magri CJ, Fava S, Galea J. Prediction of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus using routinely available clinical parameters. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev*. 2016;10(2):S96-S101. doi:10.1016/j.dsx.2016.03.002
73. Perseghin G, Caumo A, Mazzaferro V, et al. Assessment of insulin sensitivity based on a fasting blood sample in men with liver cirrhosis before and after liver transplantation. *Transplantation*. 2003;76(4):697-702. doi:10.1097/01.TP.0000079252.94857.8D
74. Ramos-Prol A, Hervas-Marin D, Rodriguez-Medina B, et al. Alterations in carbohydrate metabolism in cirrhotic patients before and after liver transplant. *Diabetes Res Clin Pract*. 2015;110(2):123-128. doi:10.1016/j.diabres.2015.10.002
75. Merli M, Leonetti F, Riggio O, et al. Glucose intolerance and insulin resistance in cirrhosis are normalized after liver transplantation. *Hepatology*. 1999;30(3):649-654. doi:10.1002/hep.510300306
76. Pelaez-Jaramillo MJ, Cardenas-Mojica AA, Gaete P V, Mendivil CO. Post-Liver Transplantation Diabetes Mellitus: A Review of Relevance and Approach to Treatment. *Diabetes Ther*. 2018;9(2):521-543. doi:10.1007/s13300-018-0374-8
77. Eshraghian A, Nikeghbalian S, Shamsaeefar A, Kazemi K, Fattahi MR, Malek-Hosseini SA. Hepatic steatosis and liver fat contents in liver transplant recipients are associated with serum adipokines and insulin resistance. *Sci Rep*. 2020;10(1):12701. doi:10.1038/s41598-020-69571-1
78. Saklayen MG. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Curr Hypertens Rep*. 2018;20(2):12. doi:10.1007/s11906-018-0812-z
79. Fussner LA, Heimbach JK, Fan C, et al. Cardiovascular disease after liver transplantation: When, What, and Who Is at Risk. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc*. 2015;21(7):889-896. doi:10.1002/lt.24137
80. Laryea M, Watt KD, Molinari M, et al. Metabolic syndrome in liver transplant recipients: prevalence and association with major vascular events. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc*. 2007;13(8):1109-1114. doi:10.1002/lt.21126
81. Sprinzl MF, Weinmann A, Lohse N, et al. Metabolic syndrome and its association with fatty liver disease after orthotopic liver transplantation. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2013;26(1):67-74. doi:10.1111/j.1432-2277.2012.01576.x
82. Becchetti C, Ferrarese A, Zeni N, et al. A prospective longitudinal assessment of de novo metabolic syndrome after liver transplantation. *Clin Transplant*. 2022;36(2):e14532. doi:10.1111/ctr.14532
83. Francque SM, Marchesini G, Kautz A, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: A patient guideline. *JHEP reports Innov Hepatol*. 2021;3(5):100322. doi:10.1016/j.jhepr.2021.100322

84. Doycheva I, Cui J, Nguyen P, et al. Non-invasive screening of diabetics in primary care for NAFLD and advanced fibrosis by MRI and MRE. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016;43(1):83-95. doi:10.1111/apt.13405
85. Gastaldelli A, Cusi K, Pettiti M, et al. Relationship Between Hepatic/Visceral Fat and Hepatic Insulin Resistance in Nondiabetic and Type 2 Diabetic Subjects. *Gastroenterology.* 2007;133(2):496-506. doi:10.1053/j.gastro.2007.04.068
86. Kotronen A, Juurinen L, Hakkarainen A, et al. Liver fat is increased in type 2 diabetic patients and underestimated by serum alanine aminotransferase compared with equally obese nondiabetic subjects. *Diabetes Care.* 2008;31(1):165-169. doi:10.2337/dc07-1463
87. Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, et al. Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2015;149(2):389-397.e10. doi:10.1053/j.gastro.2015.04.043
88. McPherson S, Hardy T, Henderson E, Burt AD, Day CP, Anstee QM. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: Implications for prognosis and clinical management. *J Hepatol.* 2015;62(5):1148-1155. doi:10.1016/j.jhep.2014.11.034
89. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, et al. Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology.* 2008;48(3):792-798. doi:10.1002/hep.22429
90. Parekh J, Corley DA, Feng S. Diabetes, hypertension and hyperlipidemia: prevalence over time and impact on long-term survival after liver transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2012;12(8):2181-2187. doi:10.1111/j.1600-6143.2012.04077.x
91. Cohen DE, Fisher EA. Lipoprotein metabolism, dyslipidemia, and nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis.* 2013;33(4):380-388. doi:10.1055/s-0033-1358519
92. Siddiqui MS, Fuchs M, Idowu MO, et al. Severity of nonalcoholic fatty liver disease and progression to cirrhosis are associated with atherogenic lipoprotein profile. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13(5):1000-1008. doi:10.1016/j.cgh.2014.10.008
93. Sliz E, Sebert S, Würtz P, et al. NAFLD risk alleles in PNPLA3, TM6SF2, GCKR and LYPLAL1 show divergent metabolic effects. *Hum Mol Genet.* 2018;27(12):2214-2223. doi:10.1093/hmg/ddy124
94. Reuben A. Long-term management of the liver transplant patient: diabetes, hyperlipidemia, and obesity. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc.* 2001;7(11 Suppl 1):S13-21. doi:10.1053/jlts.2001.29167
95. Roy A, Kneteman N, Lilly L, et al. Tacrolimus as intervention in the treatment of hyperlipidemia after liver transplant. *Transplantation.* 2006;82(4):494-500. doi:10.1097/01.tp.0000231711.82193.41
96. Watt KDS, Charlton MR. Metabolic syndrome and liver transplantation: a review and guide to management. *J Hepatol.* 2010;53(1):199-206. doi:10.1016/j.jhep.2010.01.040
97. Schwimmer JB, Celedon MA, Lavine JE, et al. Heritability of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* 2009;136(5):1585-1592. doi:10.1053/j.gastro.2009.01.050
98. Willner IR, Waters B, Patil SR, Reuben A, Morelli J, Riely CA. Ninety patients with

- nonalcoholic steatohepatitis: Insulin resistance, familial tendency, and severity of disease. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(10):2957-2961. doi:10.1016/S0002-9270(01)03229-4
99. Loomba R, Schork N, Chen CH, et al. Heritability of Hepatic Fibrosis and Steatosis Based on a Prospective Twin Study. *Gastroenterology.* 2015;149(7):1784-1793. doi:10.1053/j.gastro.2015.08.011
 100. Makkonen J, Pietiläinen KH, Rissanen A, Kaprio J, Yki-Järvinen H. Genetic factors contribute to variation in serum alanine aminotransferase activity independent of obesity and alcohol: A study in monozygotic and dizygotic twins. *J Hepatol.* 2009;50(5):1035-1042. doi:10.1016/j.jhep.2008.12.025
 101. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: Impact of ethnicity. *Hepatology.* 2004;40(6):1387-1395. doi:10.1002/hep.20466
 102. Eslam M, Valenti L, Romeo S. Genetics and epigenetics of NAFLD and NASH: Clinical impact. *J Hepatol.* 2018;68(2):268-279. doi:10.1016/j.jhep.2017.09.003
 103. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet.* 2008;40(12):1461-1465. doi:10.1038/ng.257
 104. Wilson PA, Gardner SD, Lambie NM, Commans SA, Crowther DJ. Characterization of the human patatin-like phospholipase family. *J Lipid Res.* 2006;47(9):1940-1949. doi:10.1194/jlr.M600185-JLR200
 105. Huang Y, He S, Li JZ, et al. A feed-forward loop amplifies nutritional regulation of PNPLA3. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(17):7892-7897. doi:10.1073/pnas.1003585107
 106. He S, McPhaul C, Li JZ, et al. A sequence variation (I148M) in PNPLA3 associated with nonalcoholic fatty liver disease disrupts triglyceride hydrolysis. *J Biol Chem.* 2010;285(9):6706-6715. doi:10.1074/jbc.M109.064501
 107. Chen W, Chang B, Li L, Chan L. Patatin-like phospholipase domain-containing 3/adiponutrin deficiency in mice is not associated with fatty liver disease. *Hepatology.* 2010;52(3):1134-1142. doi:10.1002/hep.23812
 108. Li JZ, Huang Y, Karaman R, et al. Chronic overexpression of PNPLA3I148M in mouse liver causes hepatic steatosis. *J Clin Invest.* 2012;122(11):4130-4144. doi:10.1172/JCI65179
 109. Smagris E, Basuray S, Li J, et al. Pnpla3I148M knockin mice accumulate PNPLA3 on lipid droplets and develop hepatic steatosis. *Hepatology.* 2015;61(1):108-118. doi:10.1002/hep.27242
 110. Basuray S, Smagris E, Cohen JC, Hobbs HH. The PNPLA3 variant associated with fatty liver disease (I148M) accumulates on lipid droplets by evading ubiquitylation. *Hepatology.* 2017.
 111. Wang Y, Kory N, BasuRay S, Cohen JC, Hobbs HH. PNPLA3, CGI-58, and Inhibition of Hepatic Triglyceride Hydrolysis in Mice. *Hepatology.* 2019;69(6):2427-2441. doi:10.1002/hep.30583

112. Mitsche MA, Hobbs HH, Cohen JC. Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 promotes transfer of essential fatty acids from triglycerides to phospholipids in hepatic lipid droplets. *J Biol Chem.* 2018;293(18):6958-6968. doi:10.1074/jbc.RA118.002333
113. Pirazzi C, Valenti L, Motta BM, et al. PNPLA3 has retinyl-palmitate lipase activity in human hepatic stellate cells. *Hum Mol Genet.* 2014;23(15):4077-4085. doi:10.1093/hmg/ddu121
114. Bruschi FV, Claudel T, Tardelli M, et al. The PNPLA3 I148M variant modulates the fibrogenic phenotype of human hepatic stellate cells. *Hepatology.* 2017;65(6):1875-1890. doi:10.1002/hep.29041
115. Lindén D, Ahnmark A, Pingitore P, et al. Pnpla3 silencing with antisense oligonucleotides ameliorates nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis in Pnpla3 I148M knock-in mice. *Mol Metab.* 2019;22:49-61. doi:10.1016/j.molmet.2019.01.013
116. Sookoian S, Castaño GO, Burgueño AL, Gianotti TF, Rosselli MS, Pirola CJ. A nonsynonymous gene variant in the adiponutrin gene is associated with nonalcoholic fatty liver disease severity. *J Lipid Res.* 2009;50(10):2111-2116. doi:10.1194/jlr.P900013-JLR200
117. Valenti L, Al-Serri A, Daly AK, et al. Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2010;51(4):1209-1217. doi:10.1002/hep.23622
118. Rotman Y, Koh C, Zmuda JM, Kleiner DE, Liang TJ. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2010;52(3):894-903. doi:10.1002/hep.23759
119. Speliotes EK, Butler JL, Palmer CD, Voight BF, Hirschhorn JN. PNPLA3 variants specifically confer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease. *Hepatology.* 2010;52(3):904-912. doi:10.1002/hep.23768
120. Anstee QM, Darlay R, Cockell S, et al. Genome-wide association study of non-alcoholic fatty liver and steatohepatitis in a histologically characterised cohort. *J Hepatol.* 2020;73(3):505-515. doi:10.1016/j.jhep.2020.04.003
121. Zain SM, Mohamed R, Mahadeva S, et al. A multi-ethnic study of a PNPLA3 gene variant and its association with disease severity in non-alcoholic fatty liver disease. *Hum Genet.* 2012;131(7):1145-1152. doi:10.1007/s00439-012-1141-y
122. Luukkonen PK, Zhou Y, Sädevirta S, et al. Hepatic ceramides dissociate steatosis and insulin resistance in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2016;64(5):1167-1175. doi:10.1016/j.jhep.2016.01.002
123. Singal AG, Manjunath H, Yopp AC, et al. The effect of PNPLA3 on fibrosis progression and development of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2014;109(3):325-334. doi:10.1038/ajg.2013.476
124. Liu YL, Patman GL, Leathart JBS, et al. Carriage of the PNPLA3 rs738409 C >g polymorphism confers an increased risk of non-alcoholic fatty liver disease associated hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2014;61(1):75-81. doi:10.1016/j.jhep.2014.02.030

125. Wijarnpreecha K, Scribani M, Raymond P, et al. PNPLA3 gene polymorphism and overall and cardiovascular mortality in the United States. *J Gastroenterol Hepatol.* 2020;35(10):1789-1794. doi:10.1111/jgh.15045
126. Finkenstedt A, Auer C, Glodny B, et al. Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 rs738409-g in recipients of liver transplants is a risk factor for graft steatosis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013;11(12):1667-1672. doi:10.1016/j.cgh.2013.06.025
127. Liu ZT, Chen TC, Lu XX, et al. PNPLA3 I148M variant affects non-alcoholic fatty liver disease in liver transplant recipients. *World J Gastroenterol.* 2015;21(34):10054-10056. doi:https://dx.doi.org/10.3748/wjg.v21.i34.10054
128. Miyaaki H, Miura S, Taura N, et al. PNPLA3 as a liver steatosis risk factor following living-donor liver transplantation for hepatitis C. *Hepatol Res.* 2018;48(3):E335-E339. doi:10.1111/hepr.12920
129. Satapathy SK, Tran QT, Kovalic AJ, et al. Clinical and Genetic Risk Factors of Recurrent Nonalcoholic Fatty Liver Disease After Liver Transplantation. *Clin Transl Gastroenterol.* 2021;12(2):e00302. doi:10.14309/ctg.0000000000000302
130. Kozlitina J, Smagris E, Stender S, et al. Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet.* 2014;46(4):352-356. doi:10.1038/ng.2901
131. Mahdessian H, Taxiarchis A, Popov S, et al. TM6SF2 is a regulator of liver fat metabolism influencing triglyceride secretion and hepatic lipid droplet content. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(24):8913-8918. doi:10.1073/pnas.1323785111
132. Smagris E, Gilyard S, BasuRay S, Cohen JC, Hobbs HH. Inactivation of Tm6sf2, a gene defective in fatty liver disease, impairs lipidation but not secretion of very low density lipoproteins. *J Biol Chem.* 2016;291(20):10659-10676. doi:10.1074/jbc.M116.719955
133. Li B-T, Sun M, Li Y-F, et al. Disruption of the ERLIN-TM6SF2-APOB complex destabilizes APOB and contributes to non-alcoholic fatty liver disease. *PLoS Genet.* 2020;16(8):e1008955. doi:10.1371/journal.pgen.1008955
134. Ehrhardt N, Doche ME, Chen S, et al. Hepatic Tm6sf2 overexpression affects cellular ApoB-trafficking, plasma lipid levels, hepatic steatosis and atherosclerosis. *Hum Mol Genet.* 2017;26(14):2719-2731. doi:10.1093/hmg/ddx159
135. Zhou Y, Llauradó G, Orešič M, Hyötyläinen T, Orho-Melander M, Yki-Järvinen H. Circulating triacylglycerol signatures and insulin sensitivity in NAFLD associated with the E167K variant in TM6SF2. *J Hepatol.* 2015;62(3):657-663. doi:10.1016/j.jhep.2014.10.010
136. O'Hare EA, Yang R, Yerges-Armstrong LM, et al. TM6SF2 rs58542926 impacts lipid processing in liver and small intestine. *Hepatology.* 2017;65(5):1526-1542. doi:10.1002/hep.29021
137. Musso G, Cipolla U, Cassader M, et al. TM6SF2 rs58542926 variant affects postprandial lipoprotein metabolism and glucose homeostasis in NAFLD. *J Lipid Res.* 2017;58(6):1221-1229. doi:10.1194/jlr.M075028
138. Newberry EP, Hall Z, Xie Y, et al. Liver specific deletion of mouse Tm6sf2 promotes steatosis, fibrosis and hepatocellular cancer. *Hepatology.* 2021;74(3):1203-1219. doi: 10.1002/hep.31771.

139. Liu Y-L, Reeves HL, Burt AD, et al. TM6SF2 rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nat Commun.* 2014;5:4309. doi:10.1038/ncomms5309
140. Dongiovanni P, Petta S, Maglio C, et al. Transmembrane 6 superfamily member 2 gene variant disentangles nonalcoholic steatohepatitis from cardiovascular disease. *Hepatology.* 2015;61(2):506-514. doi:10.1002/hep.27490
141. Sookoian S, Castaño GO, Scian R, et al. Genetic variation in transmembrane 6 superfamily member 2 and the risk of nonalcoholic fatty liver disease and histological disease severity. *Hepatology.* 2015;61(2):515-525. doi:10.1002/hep.27556
142. Krawczyk M, Rau M, Schattenberg JM, et al. Combined effects of the *PNPLA3* rs738409, *TM6SF2* rs58542926, and *MBOAT7* rs641738 variants on NAFLD severity: a multicenter biopsy-based study. *J Lipid Res.* 2017;58(1):247-255. doi:10.1194/jlr.P067454
143. Koo BK, Joo SK, Kim D, et al. Additive effects of PNPLA3 and TM6SF2 on the histological severity of non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2018;33(6):1277-1285. doi:10.1111/jgh.14056
144. Liu Z, Que S, Zhou L, et al. The effect of the TM6SF2 E167K variant on liver steatosis and fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a meta-analysis. *Sci Rep.* 2017;7(1):9273. doi:10.1038/s41598-017-09548-9
145. Gellert-Kristensen H, Richardson TG, Davey Smith G, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, Stender S. Combined Effect of PNPLA3, TM6SF2, and HSD17B13 Variants on Risk of Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma in the General Population. *Hepatology.* 2020;72(3):845-856. doi:10.1002/hep.31238
146. Anstee QM, Seth D, Day CP. Genetic Factors That Affect Risk of Alcoholic and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* 2016;150(8):1728-1744. doi:10.1053/j.gastro.2016.01.037
147. Trépo E, Valenti L. Update on NAFLD genetics: From new variants to the clinic. *J Hepatol.* 2020;72(6):1196-1209. doi:10.1016/j.jhep.2020.02.020
148. Lin Y-C, Chang P-F, Lin H-F, Liu K, Chang M-H, Ni Y-H. Variants in the autophagy-related gene IRGM confer susceptibility to non-alcoholic fatty liver disease by modulating lipophagy. *J Hepatol.* 2016;65(6):1209-1216. doi:10.1016/j.jhep.2016.06.029
149. Stender S, Kozlitina J, Nordestgaard BG, Tybjærg-Hansen A, Hobbs HH, Cohen JC. Adiposity amplifies the genetic risk of fatty liver disease conferred by multiple loci. *Nat Genet.* 2017;49(6):842-847. doi:10.1038/ng.3855
150. Barata L, Feitosa MF, Bielak LF, et al. Insulin Resistance Exacerbates Genetic Predisposition to Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Individuals Without Diabetes. *Hepatol Commun.* 2019;3(7):894-907. doi:10.1002/hep4.1353
151. Kalafati IP, Dimitriou M, Borsa D, et al. Fish intake interacts with TM6SF2 gene variant to affect NAFLD risk: results of a case-control study. *Eur J Nutr.* March 2018. doi:10.1007/s00394-018-1675-4
152. Vilar-Gomez E, Pirola CJ, Sookoian S, et al. Impact of the Association Between PNPLA3 Genetic Variation and Dietary Intake on the Risk of Significant Fibrosis in

- Patients With NAFLD. *Am J Gastroenterol.* 2021;116(5):994-1006. doi:10.14309/ajg.0000000000001072
153. Lee J, Kim Y, Friso S, Choi S-W. Epigenetics in non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Aspects Med.* 2017;54:78-88. doi:10.1016/j.mam.2016.11.008
 154. MacHado MV, Diehl AM. Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology.* 2016;150(8):1769-1777. doi:10.1053/j.gastro.2016.02.066
 155. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest.* 2005;115(5):1343-1351. doi:10.1172/JCI200523621
 156. Begriche K, Massart J, Robin MA, Bonnet F, Fromenty B. Mitochondrial adaptations and dysfunctions in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2013;58(4):1497-1507. doi:10.1002/hep.26226
 157. Reddy JK. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. III. Peroxisomal beta-oxidation, PPAR alpha, and steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001;281(6):G1333-G1339.
 158. Liu W, Baker RD, Bhatia T, Zhu L, Baker SS. Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Mol Life Sci.* 2016;73(10):1969-1987. doi:10.1007/s00018-016-2161-x
 159. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med.* 2002;8(11):1288-1295. doi:10.1038/nm788
 160. Kim Y-S, Lee S-H, Park SG, et al. Low levels of total and high-molecular-weight adiponectin may predict non-alcoholic fatty liver in Korean adults. *Metabolism.* 2020;103:154026. doi:10.1016/j.metabol.2019.154026
 161. Siddiqui MB, Patel S, Arshad T, et al. The Relationship Between Hypoadiponectinemia and Cardiovascular Events in Liver Transplant Recipients. *Transplantation.* 2019;103(11):2323-2328. doi:10.1097/TP.0000000000002714
 162. Martínez-Uña M, López-Mancheño Y, Diéguez C, Fernández-Rojo MA, Novelle MG. Unraveling the Role of Leptin in Liver Function and Its Relationship with Liver Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020;21(24). doi:10.3390/ijms21249368
 163. Cernea S, Roiban AL, Both E, Huțanu A. Serum leptin and leptin resistance correlations with NAFLD in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2018;34(8):e3050. doi:10.1002/dmrr.3050
 164. Leung C, Rivera L, Furness JB, Angus PW. The role of the gut microbiota in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016;13(7):412-425. doi:10.1038/nrgastro.2016.85
 165. Yamaguchi K, Yang L, McCall S, et al. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2007;45(6):1366-1374. doi:10.1002/hep.21655
 166. Liu W, Baker SS, Baker RD, Zhu L. Antioxidant Mechanisms in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Curr Drug Targets.* 2015;16(12):1301-14. doi:10.2174/1389450116666150427155342.

167. Passos E, Ascensão A, Martins MJ, Magalhães J. Endoplasmic Reticulum Stress Response in Non-alcoholic Steatohepatitis: The Possible Role of Physical Exercise. *Metabolism*. 2015;64(7):780-792. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2015.02.003
168. Kleiner DE, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: Pathologic patterns and biopsy evaluation in clinical research. *Semin Liver Dis*. 2012;32(1):3-13. doi:10.1055/s-0032-1306421
169. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*. 2008;134(6):1655-1669. doi:10.1053/j.gastro.2008.03.003
170. Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, et al. Hepatocyte apoptosis and Fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2003;125(2):437-443. doi:10.1016/S0016-5085(03)00907-7
171. Kamari Y, Shaish A, Vax E, et al. Lack of interleukin-1 α or interleukin-1 β inhibits transformation of steatosis to steatohepatitis and liver fibrosis in hypercholesterolemic mice. *J Hepatol*. 2011;55(5):1086-1094. doi:10.1016/j.jhep.2011.01.048
172. Wan J, Benkdane M, Teixeira-Clerc F, et al. M2 Kupffer cells promote M1 Kupffer cell apoptosis: A protective mechanism against alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2014;59(1):130-142. doi:10.1002/hep.26607
173. Luo W, Xu Q, Wang Q, Wu H, Hua J. Effect of modulation of PPAR- γ activity on Kupffer cells M1/M2 polarization in the development of non-alcoholic fatty liver disease. *Sci Rep*. 2017;7:44612. doi:10.1038/srep44612
174. Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14(7):397-411. doi:10.1038/nrgastro.2017.38
175. Puche JE, Saiman Y, Friedman SL. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Compr Physiol*. 2013;3(4):1473-1492. doi:10.1002/cphy.c120035
176. Dewidar B, Meyer C, Dooley S, Meindl-Beinker AN. TGF- β in Hepatic Stellate Cell Activation and Liver Fibrogenesis-Updated 2019. *Cells*. 2019;8(11). doi:10.3390/cells8111419
177. Nobili V, Carpino G, Alisi A, et al. Hepatic progenitor cells activation, fibrosis, and adipokines production in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2012;56(6):2142-2153. doi:10.1002/hep.25742
178. Richardson MM, Jonsson JR, Powell EE, et al. Progressive fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis: association with altered regeneration and a ductular reaction. *Gastroenterology*. 2007;133(1):80-90. doi:10.1053/j.gastro.2007.05.012
179. De Minicis S, Rychlicki C, Agostinelli L, et al. Dysbiosis contributes to fibrogenesis in the course of chronic liver injury in mice. *Hepatology*. 2014;59(5):1738-1749. doi:10.1002/hep.26695
180. Seki E, De Minicis S, Österreicher CH, et al. TLR4 enhances TGF- β signaling and hepatic fibrosis. *Nat Med*. 2007;13(11):1324-1332. doi:10.1038/nm1663
181. Danford CJ, Connelly MA, Shalaurova I, et al. A Pathophysiologic Approach Combining Genetics and Insulin Resistance to Predict the Severity of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatol Commun*. 2018;2(12):1467-1478. doi:10.1002/hep4.1267
182. Lang S, Martin A, Zhang X, et al. Combined analysis of gut microbiota, diet and

- PNPLA3 polymorphism in biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. 2021;41(7):1576-1591. doi:10.1111/liv.14899
183. Mazzotti A, Caletti MT, Sasdelli AS, Brodosi L, Marchesini G. Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Lifestyle-Gut-Gene Interaction. *Dig Dis*. 2016;34 Suppl 1:3-10. doi:10.1159/000447275
 184. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis Progression in Nonalcoholic Fatty Liver versus Nonalcoholic Steatohepatitis: A Systematic Review and Meta-analysis of Paired-Biopsy Studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13(4):643-654. doi:10.1016/j.cgh.2014.04.014.Fibrosis
 185. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology*. 2015;61(5):1547-1554. doi:10.1002/hep.27368
 186. Cholankeril G, Wong RJ, Hu M, et al. Liver Transplantation for Nonalcoholic Steatohepatitis in the US: Temporal Trends and Outcomes. *Dig Dis Sci*. 2017;62(10):2915-2922. doi:10.1007/s10620-017-4684-x
 187. Ascha MS, Hanouneh IA, Lopez R, Tamimi TA-R, Feldstein AF, Zein NN. The incidence and risk factors of hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2010;51(6):1972-1978. doi:10.1002/hep.23527
 188. Welzel TM, Graubard BI, Quraishi S, et al. Population-Attributable Fractions of Risk Factors for Hepatocellular Carcinoma in the United States. *Am J Gastroenterol*. 2013;108(8):1314-1321. doi:10.1038/ajg.2013.160
 189. Dyson J, Jaques B, Chattopadhyay D, et al. Hepatocellular cancer: The impact of obesity, type 2 diabetes and a multidisciplinary team. *J Hepatol*. 2014;60(1):110-117. doi:10.1016/j.jhep.2013.10.003
 190. Piscaglia F, Svegliati-Baroni G, Barchetti A, et al. Clinical patterns of hepatocellular carcinoma in nonalcoholic fatty liver disease: A multicenter prospective study. *Hepatology*. 2016;63(3):827-838. doi:10.1002/hep.28368
 191. Liu Y, Zhong G-C, Tan H-Y, Hao F-B, Hu J-J. Nonalcoholic fatty liver disease and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: a meta-analysis. *Sci Rep*. 2019;9(1):11124. doi:10.1038/s41598-019-47687-3
 192. Šöderberg C, Stål P, Askling J, et al. Decreased survival of subjects with elevated liver function tests during a 28-year follow-up. *Hepatology*. 2010;51(2):595-602. doi:10.1002/hep.23314
 193. Targher G, Byrne CD, Lonardo A, Zoppini G, Barbui C. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident cardiovascular disease: A meta-analysis. *J Hepatol*. 2016;65(3):589-600. doi:10.1016/j.jhep.2016.05.013
 194. Bhatia L, Scorletti E, Curzen N, Clough GF, Calder PC, Byrne CD. Improvement in non-alcoholic fatty liver disease severity is associated with a reduction in carotid intima-media thickness progression. *Atherosclerosis*. 2016;246:13-20. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.12.028
 195. Dureja P, Mellinger J, Agni R, et al. NAFLD recurrence in liver transplant recipients. *Transplantation*. 2011;91(6):684-689. doi:10.1097/TP.0b013e31820b6b84

196. Narayanan P, Mara K, Izzy M, et al. Recurrent or De Novo Allograft Steatosis and Long-term Outcomes After Liver Transplantation. *Transplantation*. 2019;103(1):e14-e21. doi:10.1097/TP.0000000000002317
197. Gitto S, De Maria N, Di Benedetto F, et al. De-novo nonalcoholic steatohepatitis is associated with long-term increased mortality in liver transplant recipients. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2018;30(7):766-773. doi:10.1097/MEG.0000000000001105
198. Idowu MO, Chhatrala R, Siddiqui MB, et al. De novo hepatic steatosis drives atherogenic risk in liver transplantation recipients. *Liver Transplant*. 2015;21(11):1395-1402. doi:10.1002/lt.24223
199. Cífková R, Škodová Z, Bruthans J, et al. Longitudinal trends in major cardiovascular risk factors in the Czech population between 1985 and 2007/8. Czech MONICA and Czech post-MONICA. *Atherosclerosis*. 2010;211(2):676-681. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2010.04.007
200. Hejlova I, Honsova E, Sticova E, et al. Prevalence and risk factors of steatosis after liver transplantation and patient outcomes. *Liver Transplant*. 2016;22(5):644-655. doi:10.1002/lt.24393
201. Chayanupatkul M, Dasani DB, Sogaard K, Schiano TD. The Utility of Assessing Liver Allograft Fibrosis and Steatosis Post-Liver Transplantation Using Transient Elastography With Controlled Attenuation Parameter. *Transplant Proc*. 2021;53(1):159-165. doi:10.1016/j.transproceed.2020.02.160
202. Lim LG, Cheng CL, Wee A, et al. Prevalence and clinical associations of posttransplant fatty liver disease. *Liver Int*. 2007;27(1):76-80. doi:LIV1396 [pii]r10.1111/j.1478-3231.2006.01396.x
203. Seo S, Maganti K, Khehra M, et al. De novo nonalcoholic fatty liver disease after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2007;13(6):844-847. doi:10.1002/lt.20932
204. Dobrindt EM, Alex L, Saipbaev A, et al. Association between obesity after liver transplantation and steatosis, inflammation, and fibrosis of the graft. *Clin Transplant*. 2020;34(12):e14093. doi:10.1111/ctr.14093
205. Kuiper EMM, Hansen BE, de Vries RA, et al. Improved prognosis of patients with primary biliary cirrhosis that have a biochemical response to ursodeoxycholic acid. *Gastroenterology*. 2009;136(4):1281-1287. doi:10.1053/j.gastro.2009.01.003
206. Lindström L, Hultcrantz R, Boberg KM, Friis-Liby I, Bergquist A. Association between reduced levels of alkaline phosphatase and survival times of patients with primary sclerosing cholangitis. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2013;11(7):841-846. doi:10.1016/j.cgh.2012.12.032
207. Sorrentino P, Terracciano L, D'Angelo S, et al. Oxidative stress and steatosis are cofactors of liver injury in primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol*. 2010;45(10):1053-1062. doi:10.1007/s00535-010-0249-x
208. Okamura T, Hashimoto Y, Hamaguchi M, Obora A, Kojima T, Fukui M. Creatinine-to-bodyweight ratio is a predictor of incident non-alcoholic fatty liver disease: A population-based longitudinal study. *Hepatol Res*. 2020;50(1):57-66. doi:10.1111/hepr.13429
209. Maksimovic-Ivanic D, Trajkovic V, Miljkovic DJ, Mostarica Stojkovic M, Stosic-

- Grujicic S. Down-regulation of multiple low dose streptozotocin-induced diabetes by mycophenolate mofetil. *Clin Exp Immunol*. 2002;129(2):214-223. doi:10.1046/j.1365-2249.2002.02001.x
210. Hao L, Chan SM, Lafferty KJ. Mycophenolate mofetil can prevent the development of diabetes in BB rats. *Ann N Y Acad Sci*. 1993;696:328-332. doi:10.1111/j.1749-6632.1993.tb17168.x
211. D'Avola D, Cuervas-Mons V, Martí J, et al. Cardiovascular morbidity and mortality after liver transplantation: The protective role of mycophenolate mofetil. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc*. 2017;23(4):498-509. doi:10.1002/lt.24738
212. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology*. 2003;37(5):1202-1219. doi:10.1053/jhep.2003.50193
213. Ballestri S, Nascimbeni F, Baldelli E, Marrazzo A, Romagnoli D, Lonardo A. NAFLD as a Sexual Dimorphic Disease: Role of Gender and Reproductive Status in the Development and Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Inherent Cardiovascular Risk. *Adv Ther*. 2017;34(6):1291-1326. doi:10.1007/s12325-017-0556-1
214. Shaked O, Demetris J, Levitsky J, et al. Impact of Donor and Recipient Clinical Characteristics and Hepatic Histology on Steatosis/Fibrosis Following Liver Transplantation. *Transplantation*. 2022;106(1):106-116. doi:10.1097/TP.0000000000003681
215. Evans HM, Kelly DA, McKiernan PJ, Hübscher S. Progressive histological damage in liver allografts following pediatric liver transplantation. *Hepatology*. 2006;43(5):1109-1117. doi:10.1002/hep.21152
216. Mikova I, Neroldova M, Hubacek JA, et al. Donor PNPLA3 and TM6SF2 Variant Alleles Confer Additive Risks for Graft Steatosis After Liver Transplantation. *Transplantation*. 2020;104(3):526-534. doi:10.1097/TP.0000000000002876
217. Milano M, Aghemo A, Mancina RM, et al. Transmembrane 6 Superfamily Member 2 Gene E167K Variant Impacts on Steatosis and Liver Damage in Chronic Hepatitis C Patients. *Hepatology*. 2015;62(1):111-117. doi:10.1002/hep.27811
218. Eshraghian A, Moasser E, Azarpira N, et al. Variations in TM6SF2, PCSK9 and PCSK7 genes and risk of hepatic steatosis after liver transplantation: a cross-sectional study. *BMC Gastroenterol*. 2021;21(1):458. doi:10.1186/s12876-021-02041-8
219. Truncka P, Mikova I, Dlouha D, et al. Donor PNPLA3 rs738409 genotype is a risk factor for graft steatosis. A post-transplant biopsy-based study. *Dig Liver Dis*. January 2018. doi:10.1016/j.dld.2017.12.030
220. Watt KD, Dierkhising R, Fan C, et al. Investigation of PNPLA3 and IL28B genotypes on diabetes and obesity after liver transplantation: Insight into mechanisms of disease. *Am J Transplant*. 2013;13(9):2450-2457. doi:10.1111/ajt.12355
221. Kempinska-Podhorodecka A, Krawczyk M, Klak M, et al. Healthy PNPLA3 risk allele carriers present with unexpected body fat composition. A study of one thousand subjects. *J Gastrointest Liver Dis*. 2014;23(1):33-37.

222. Wang X, Liu Z, Wang K, et al. Additive Effects of the Risk Alleles of PNPLA3 and TM6SF2 on Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) in a Chinese Population. *Front Genet.* 2016;7:140. doi:10.3389/fgene.2016.00140
223. Chen L-Z, Ding H-Y, Liu S-S, et al. Combining I148M and E167K variants to improve risk prediction for nonalcoholic fatty liver disease in Qingdao Han population, China. *Lipids Health Dis.* 2019;18(1):45. doi:10.1186/s12944-019-0992-9
224. Xu M, Li Y, Zhang S, Wang X, Shen J, Zhang S. Interaction of TM6SF2 E167K and PNPLA3 I148M variants in NAFLD in northeast China. *Ann Hepatol.* 2019;18(3):456-460. doi:10.1016/j.aohp.2018.10.005
225. Chen L, Du S, Lu L, et al. The additive effects of the TM6SF2 E167K and PNPLA3 I148M polymorphisms on lipid metabolism. *Oncotarget.* 2017;8(43):74209-74216. doi:10.18632/oncotarget.18474
226. Qadri S, Lallukka-Brück S, Luukkonen PK, et al. The PNPLA3-I148M variant increases polyunsaturated triglycerides in human adipose tissue. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver.* 2020;40(9):2128-2138. doi:10.1111/liv.14507
227. Maruyama H, Kobayashi K, Kiyono S, Yokosuka O. Interrelationship between insulin resistance and portal haemodynamic abnormality in cirrhosis. *Int J Med Sci.* 2017;14(3):240-245. doi:10.7150/ijms.17738
228. Calzadilla-Bertot L, Vilar-Gomez E, Torres-Gonzalez A, et al. Impaired glucose metabolism increases risk of hepatic decompensation and death in patients with compensated hepatitis C virus-related cirrhosis. *Dig Liver Dis.* 2016;48(3):283-290. doi:10.1016/j.dld.2015.12.002
229. Petrides AS, Stanley T, Matthews DE, Vogt C, Bush AJ, Lambeth H. Insulin resistance in cirrhosis: prolonged reduction of hyperinsulinemia normalizes insulin sensitivity. *Hepatology.* 1998;28(1):141-149. doi:10.1002/hep.510280119
230. Orsi E, Grancini V, Menini S, Aghemo A, Pugliese G. Hepatogenous diabetes: Is it time to separate it from type 2 diabetes? *Liver Int.* 2017;37(7):950-962. doi:10.1111/liv.13337
231. Kruszynska YT, Meyer-Alber A, Darakhshan F, Home PD, McIntyre N. Metabolic handling of orally administered glucose in cirrhosis. *J Clin Invest.* 1993;91(3):1057-1066. doi:10.1172/JCI116263
232. Tietge UJF, Selberg O, Kreter A, et al. Alterations in glucose metabolism associated with liver cirrhosis persist in the clinically stable long-term course after liver transplantation. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc.* 2004;10(8):1030-1040. doi:10.1002/lt.20147
233. Cabre E, Gassull MA. Nutritional and metabolic issues in cirrhosis and liver transplantation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2000;3(5):345-354.
234. Andrade AR, Bittencourt PL, Codes L, et al. New Onset Diabetes and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease after Liver Transplantation. *Ann Hepatol.* 2017;16(6):932-940. doi:10.5604/01.3001.0010.5285
235. Bugianesi E, Marchesini G, Gentilcore E, et al. Fibrosis in genotype 3 chronic hepatitis C and nonalcoholic fatty liver disease: Role of insulin resistance and hepatic steatosis. *Hepatology.* 2006;44(6):1648-1655. doi:10.1002/hep.21429

236. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, et al. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology*. 2002;35(2):373-379. doi:10.1053/jhep.2002.30692
237. Bugianesi E, Manzini P, D'Antico S, et al. Relative contribution of iron burden, HFE mutations, and insulin resistance to fibrosis in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology*. 2004;39(1):179-187. doi:10.1002/hep.20023
238. Moucari R, Asselah T, Cazals-Hatem D, et al. Insulin resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level, and liver fibrosis. *Gastroenterology*. 2008;134(2):416-423. doi:10.1053/j.gastro.2007.11.010
239. Hui JM, Sud A, Farrell GC, et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression [corrected]. *Gastroenterology*. 2003;125(6):1695-1704. doi:10.1053/j.gastro.2003.08.032
240. Powell EE, Cooksley WG, Hanson R, Searle J, Halliday JW, Powell LW. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years. *Hepatology*. 1990;11(1):74-80. doi:10.1002/hep.1840110114
241. Øzbay LA, Smidt K, Mortensen DM, Carstens J, Jørgensen KA, Rungby J. Cyclosporin and tacrolimus impair insulin secretion and transcriptional regulation in INS-1E beta-cells. *Br J Pharmacol*. 2011;162(1):136-146. doi:10.1111/j.1476-5381.2010.01018.x
242. Pereira MJ, Palming J, Rizell M, et al. Cyclosporine A and tacrolimus reduce the amount of GLUT4 at the cell surface in human adipocytes: increased endocytosis as a potential mechanism for the diabetogenic effects of immunosuppressive agents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(10):E1885-94. doi:10.1210/jc.2014-1266
243. Konrad T, Steinmüller T, Vicini P, et al. Regulation of glucose tolerance in patients after liver transplantation: impact of cyclosporin versus tacrolimus therapy. *Transplantation*. 2000;69(10):2072-2078. doi:10.1097/00007890-200005270-00017
244. Beaupere C, Liboz A, Fève B, Blondeau B, Guillemain G. Molecular Mechanisms of Glucocorticoid-Induced Insulin Resistance. *Int J Mol Sci*. 2021;22(2). doi:10.3390/ijms22020623
245. Zhou P-Z, Zhu Y-M, Zou G-H, et al. Relationship Between Glucocorticoids and Insulin Resistance in Healthy Individuals. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2016;22:1887-1894. doi:10.12659/msm.895251

9. Přílohy

1. Hejlova I, Honsova E, Sticova E, Lanska V, Hucl T, Spicak J, Jirsa M, Trunecka P. **Prevalence and risk factors of steatosis after liver transplantation and patient outcomes.** Liver Transplant. 2016;22(5):644-655. doi:10.1002/lt.24393. **IF=3,910, citováno 14x**
2. Míková I, Neřoldová M, Hubáček JA, Dlouhá D, Jirsa M, Honsová E, Sticová E, Lánská V, Špičák J, Trunečka P. . **Donor PNPLA3 and TM6SF2 Variant Alleles Confer Additive Risks for Graft Steatosis After Liver Transplantation.** Transplantation. 2020;104(3):526-534. doi:10.1097/TP.0000000000002876. **IF 4,939, citováno 5x.**
3. Míková I, Erhartová D, Dvořáková K, Šedivý P, Drobný M, Dezortová M, Hájek M, Cahová M, Daňková H, Sticová E, Lánská V, Trunečka P. **Vývoj insulinové resistance po transplantaci jater- prospektivní studie.** Gastroenterologie a hepatologie 2019;73(4):287-295. Bez IF.