

# LIKUNNAN VAIKUTUS SUOLISTON MIKROBISTOON EI- ALKOHOLIPERÄISESSÄ RASVAMAKSATAUDISSA

Veera Suni

Lääketieteen koulutusohjelma

Itä-Suomen yliopisto

Terveystieteiden tiedekunta

Lääketieteen laitos

Maaliskuu 2022

Itä-Suomen yliopisto, Terveystieteiden tiedekunta

Lääketieteen laitos

Lääketieteen koulutusohjelma

Suni, Veera: Liikunnan vaikutus suoliston mikrobistoon ei-alkoholiperäisessä rasvamaksataudissa

Opinnäytetutkielma, 49 sivua

Ohjaajat: Vs. prof, dos Ville Männistö, LL Milla-Maria Tauriainen

Maaliskuu 2022

**Asiasanat:** NAFLD, liikunta, suoliston mikrobisto

Tässä kirjallisuuskatsauksessa tarkasteltiin liikunnan vaikutuksia suoliston mikrobistoon ei-alkoholiperäisessä rasvamaksataudissa. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksatauti liittyy vahvasti muihin metabolisiin sairauksiin, kuten lihavuuteen ja tyyppin 2 diabetekseen. Viime vuosien aikana on saatu runsaasti tietoa myös suoliston mikrobiston vaikutuksista näihin sairauksiin.

Tämänhetkiset tutkimusmenetelmät ovat sallineet suoliston mikrobiston tutkimisen lähinnä bakteerien pääjaksojen tasolla. Eniten on tutkittu *Firmicutes*- ja *Bacteroidetes* -pääjaksoja. Korkean *Firmicutes/Bacteroidetes* -suhteen on ajateltu liittyvän lihavuuteen ja rasvamaksatautiin. Tämän katsauksen perusteella tutkimusnäyttö aiheesta on ristiriitaista. Joidenkin tutkimusten perusteella *Bacteroidetes* -määrät odotusten vastaisesti lisääntyvät hoikilla ja runsaasti liikkuvilla. Useissa eri tutkimuksissa suolistomikrobiomin monimuotoisuus näyttää kategorisesti lisääntyvän vasteena liikunnalle. Liikunnan vaikutusten tutkimiseen liittyy kuitenkin sekoittavia tekijöitä, kuten ruokavalio.

Urheilijoilla tehdyissä tutkimuksissa suolistomikrobiston tuottamien terveydelle edullisten aineenvaihduntatuotteiden kuten lyhytketjuisten rasvahappojen määrä vaikutti lisääntyneen. Rasvamaksatautipotilailla tehdyissä tutkimuksissa suolistomikrobien tuottamien maksalle haitallisten aineiden, kuten lipopolysakkaridien ja etanolin, tuotanto oli lisääntynyt.

Rasvamaksataudin riskitekijät, patogeneesi ja ennuste tunnetaan jo melko hyvin. Liikunnan tiedetään olevan tehokas hoitomenetelmä. Liikunnan aiheuttamat muutokset suoliston mikrobistossa näyttävät olevan eräs liikunnan suotuisia vaikutuksia maksaan välittävä tekijä.

University Of Eastern Finland, Faculty of Health Sciences

School of Medicine

Medicine

Suni, Veera: The effect of exercise on gut microbiome in non-alcoholic fatty liver disease

Thesis, 49 pages

Tutors: MD, PhD Ville Männistö, MD Milla-Maria Tauriainen

March 2022

**Keywords:** NAFLD, exercise, gut microbiome

In this thesis the aim was to review the effect of exercise on gut microbiome in non-alcoholic fatty liver disease. Non-alcoholic fatty liver disease is strongly related to other metabolic diseases, such as obesity and type II diabetes. Last couple of years have yielded new insights about the role of gut microbiome in the development and pathogenesis of these diseases.

Current research methods have limited the study of gut microbiome mostly to the level of phyla. Of these, the phyla *Firmicutes* and *Bacteroidetes* have been studied the most. A high *Firmicutes/Bacteroidetes* -ratio has been related to obesity and fatty liver disease. This review suggests that the current evidence is not entirely coherent. Contrary to the expectations, *Bacteroidetes* were found to be increased among lean individuals in some studies. In multiple different studies the diversity of the gut microbiome was found to increase in response to physical exercise. However, studies assessing the effect of exercise often involved some confounding factors such as diet.

In studies conducted with professional athletes the beneficial metabolites produced by gut microbiome, such as short-chain fatty acids, were found to be increased. In similar studies with patients with non-alcoholic fatty liver disease the production of ethanol, lipopolysaccharides and other adverse metabolites was found to be increased.

The understanding of risk factors, pathogenesis and prognosis of the non-alcoholic fatty liver disease is already well established. Physical exercise is known to be an effective treatment method. Exercise-induced changes on gut microbiome seem to be one mediator of the beneficial effects on liver.

# Sisältö

Johdanto	1
1. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin määritelmä	2
2. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin yleisyys	4
3. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin riskitekijät	5
3.1 Metabolinen oireyhtymä ja diabetes	5
3.2 Elintavat	6
3.3 Genetiikka	6
3.4 Muut riskitekijät	8
4. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin diagnostiikka	9
4.1 Diagnostiset kriteerit	9
4.2 Riskipotilaiden tunnistaminen	11
5. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin patogeneesi	12
5.1 Ei-alkoholiperäinen rasvamaksa	12
5.2 Steatohepatiitti	13
6. Suoliston mikrobisto ja ei-alkoholiperäisen rasvamaksatauti	16
6.1 Yleistä	16
6.2 Suolistomikrobien tuottamat lyhytketjuiset rasvahapot	16
6.3 Lipopolysakkaridit tulehduksen välittäjinä	18
6.4 Suoliston mikrobiston koostumus	18
6.5 Suolistomikrobien tuottama etanoli	21
6.6 Muut	21
7. Liikunnan yhteys suoliston mikrobistoon	23
7.1 Havaitut vaikutukset suoliston mikrobistossa	23
7.2 Mekanismit	27
8. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin hoito	29
8.1 Yleistä	29
8.2 Ruokavalio	29
8.3 Liikunta	30
8.4 Lääkehoito	31
9. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin ennuste	34
10. Pohdinta	37
11. Lähteet	40

## Johdanto

Ei-alkoholiperäinen rasvamaksatauti on yleinen elintapasairaus. Tautia sairastaa jopa yli neljäsosa länsimaisesta aikuisväestöstä. Se on myös yleisin krooninen maksasairaus. Osalla potilaista rasvamaksatauti etenee steatohepatiitiksi, jolloin riski maksakirroosille, loppuvaiheen maksasairaudelle ja jopa maksansiirrolle, on huomattavasti lisääntynyt. Tutkimusta rasvamaksatautiin liittyen tehdään runsaasti, ja tieto taudista lisääntyy jatkuvasti.

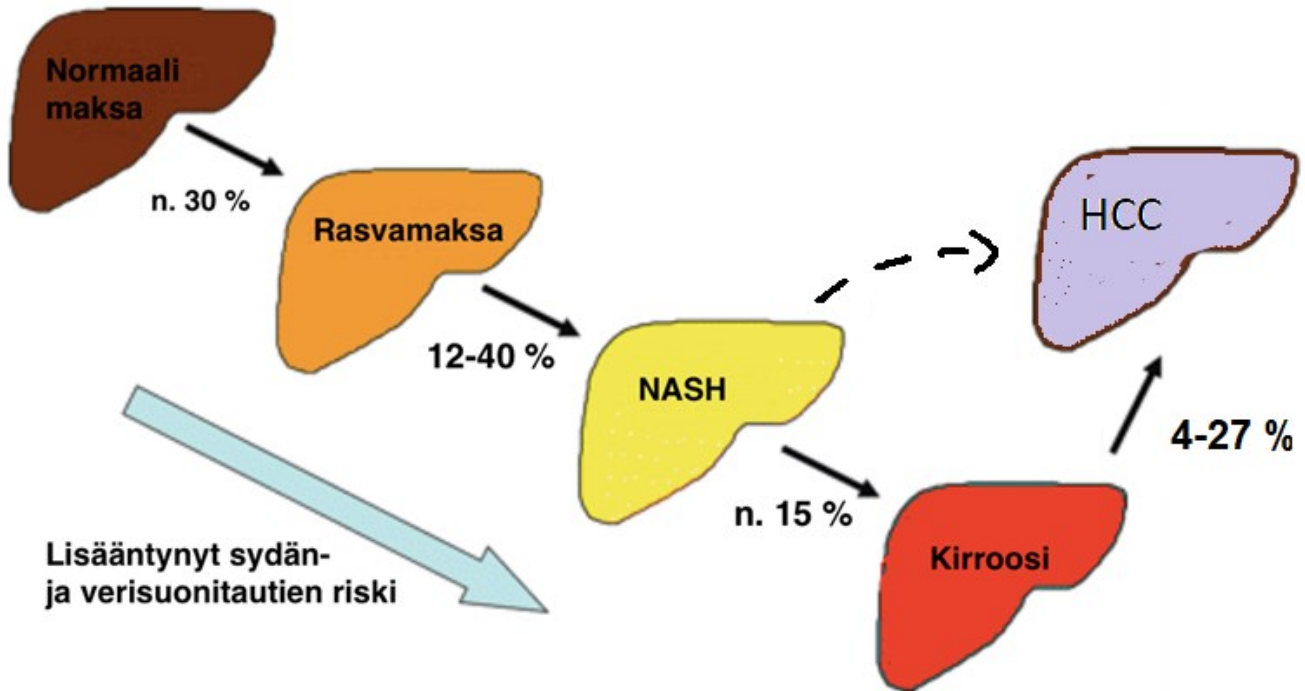
Ihmisellä on suoliston mikrobistoon eli suolistossa asuviin bakteereihin, viruksiin ja sieniin kumpaakin osapuolta hyödyttävä symbioottinen suhde. Normaali suoliston mikrobisto vaikuttaa elimistön homeostaasin ylläpitoon usein eri mekanismein, joiden merkityksiä ei täysin aukottomasti vielä tunneta. Tutkimustietoa suoliston mikrobiston roolista eri sairauksien kehittymisessä saadaan koko ajan lisää.

Rasvamaksataudin tärkein riskitekijä on ylipaino. Ylipainoisten suoliston mikrobistossa on useissa tutkimuksissa havaittu muutoksia verrattuna normaalipainoisiin. Toisaalta myös säännöllistä liikuntaa harrastavien suoliston mikrobistossa on havaittu muutoksia, jotka saattavat olla välittämässä liikunnan edullisia terveystuloksia. Tässä katsauksessa perehdytään suoliston mikrobiston rooliin rasvamaksataudissa sekä liikunnan vaikutuksiin suoliston mikrobistossa.

## 1. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin määritelmä

Ei-alkoholiperäinen rasvamaksatauti (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) jaetaan ei-alkoholiperäiseen rasvamaksaan (non-alcoholic fatty liver, NAFL) ja ei-alkoholiperäiseen steatohepatiittiin (non-alcoholic steatohepatitis, NASH). NAFLD voi ilmetä myös kirroosina tai loppuvaiheen maksasairautena. Suurimmalla osalla rasvamaksatautia sairastavista tilaan liittyy metabolinen oireyhtymä ja sen myötä insuliiniresistenssiä, ylipainoa ja dyslipidemiaa. (1) On pohdittu NAFLD:n nimen muuttamista metaboliseksi rasvamaksataudiksi (metabolic dysfunction-associated fatty liver disease, MAFLD), koska tämän nimen voi ajatella kuvaavan paremmin taudin yhteyttä metabolisiin riskitekijöihin (2)

NAFL on määritelty tilaksi, jossa maksan rasvapitoisuus maksakoepalassa on 5 % tai enemmän. Histologisesti maksasolut eli hepatosyytit eivät NAFL:ssä ole vaurioituneet. NASH:ssa maksassa on koepalassa havaitun vähintään 5 %:n rasvoittumisen lisäksi todettavissa hepatosyyttien tulehdusta ja vaurioitumista (ballooning). Näiden muutosten ohella maksassa voi esiintyä fibroosia. Kaikilla NASH-potilailla ei fibroosia kuitenkaan havaita. Sekä rasvamaksan että steatohepatiitin määritelmään kuuluu aina myös sekundaaristen syiden, kuten liiallisen alkoholin kulutuksen, maksatoksisten lääkeaineiden ja C-hepatiitin, poissulku. (1)



Kuva 1. Rasvamaksataudin luonnollinen kulku. Noin kolmanneksella suomalaisesta aikuisväestöstä esiintyy maksan rasvoittumista (NAFL). NAFL-potilaista 12–40 %:lla tautiin liittyy steatohepatiitti (NASH). NASH:ia sairastavista maksakirroosi kehittyy edelleen noin 15 %:lle. Maksasolusyöpä (hepatocellular carcinoma, HCC) kehittyy 4–27 %:lle kirroottisista maksoista. HCC voi joissain tapauksissa kehittyä myös ilman fibroosia. (3)

## 2. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin yleisyys

NAFLD on maailmanlaajuisesti yleisin krooninen maksasairaus. Laajan meta-analyysin perusteella sen on arvioitu esiintyvän noin 25 %:lla länsimaiden väestöstä (4)(5). NAFLD on myös yleisin syy kroonisesti koholla olevien maksa-arvojen (alaniiniaminotransaminaasi (ALAT), aspartaattiaminotransferaasi (ASAT)) taustalla (6). Suomessa rasvamaksataudin esiintyvyys 35–74-vuotiaiden ikäryhmässä on noin 30 % (7). Prevalenssi korreloi lihavuuden asteen kanssa. Lihavuden asteen mittarina yleisesti käytössä on painoindeksi, BMI (body mass index). Lihavilla (BMI 30–40 kg/m<sup>2</sup>) NAFLD:tä esiintyy 65 %:lla. Sairaanloisen lihavilla (BMI 40 kg/m<sup>2</sup> tai enemmän) prevalenssi on noin 85 %. Tyypin 2 diabeetikoista NAFLD:ta sairastaa jopa 70 %. (8) Lihavuuden lisääntyessä myös sen liitännäissairaudet kuten NAFLD ja tyypin 2 diabetes lisääntyvät. On siis todennäköistä, että rasvamaksataudin prevalenssi kasvaa maailmanlaajuisesti elintapasairauksien lisääntyessä. (1) NASH:n prevalenssiksi on arvioitu muutama prosentti väestöstä (5). Suomalaisessa tutkimuksessa on arvioitu 45–74-vuotiaista noin 5 %:n sairastavan NASH:ia (7). Esiintyvyyden arviointi on hankalaa, koska diagnoosi edellyttää maksabiopsiaa.



### 3. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin riskitekijät

#### 3.1 Metabolinen oireyhtymä ja tyypin 2 diabetes

Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin suurimmat riskitekijät ovat ylipaino ja metabolinen oireyhtymä (1). Kaikki metabolisen oireyhtymän viisi osatekijää (suurentunut vyötärön ympäryys, dyslipidemia, matala HDL, korkea verenpaine sekä kohonnut paastosokeri tai tyypin 2 diabetes) ovat NAFLD:n riskitekijöitä ja korreloivat maksan rasvapitoisuuden kanssa BMI:stä riippumatta. Yhtä lailla NAFLD on riskitekijä myös metabolisen oireyhtymän osatekijöille. Metabolista oireyhtymää sairastavilta potilailta (diagnoosiin vaaditaan vähintään kolme edellä mainituista viidestä osatekijästä) on arvioitava NAFLD:n riskiä. Vastaavasti NAFLD-potilailta on arvioitava ja tutkittava metabolisten häiriöiden sekä sydän- ja verisuonitautien mahdollisuus. (9)

TAULUKKO 1. Metabolisen oireyhtymän Suomessa käytetyt kriteerit

<b>Metabolisen oireyhtymän kriteerit:</b>
1. Vyötärön ympäryys miehillä $\geq 100$ cm ja naisilla $\geq 90$ cm
2. Triglyseridit $\geq 1.7$ mmol/l tai tähän suunnattu lääkehoito
3. HDL-kolesteroli $< 1.0$ mmol/l miehillä tai $< 1.3$ mmol/l naisilla tai tähän suunnattu lääkehoito
4. Verenpaine $\geq 130/85$ mmHg tai tähän suunnattu lääkehoito
5. Paastoglukoosi $\geq 5.6$ mmol/l tai tähän suunnattu lääkehoito
Metabolisen oireyhtymän toteaminen edellyttää vähintään kolmen yllä olevan kriteerin täyttymistä

Maksalla on tärkeä rooli sokeriaineenvaihdunnan säätelyssä. On havaittu, että rasvamaksapotilaat ovat kaksi kertaa suuremmassa riskissä sairastua diabetekseen kuin samanpainoiset verrokkit (10). Mikäli rasvamaksataudin taustalla ei ole geneettistä syytä, rasvamaksatauti voidaan pitää metabolisen oireyhtymän maksailmentymänä (11). Diabetes korreloi NAFLD:n vaikeusasteen, NASH:n kehittymisen, fibroosin etenemisen ja maksasolusyövän kehittymisen kanssa (5). Rasvamaksataudin eteneminen voi siis olla nopeampaa ja vaikeusaste hankalampi diabetesta sairastavilla verrattuna muihin rasvamaksatautipotilaisiin (12).

NAFLD:ta esiintyy myös hoikilla ihmisillä (13). Hoikilla potilailla geneettisillä tekijöillä, ruokavaliolla ja ympäristötekijöillä on suurempi merkitys (14).

### 3.2 Elintavat

Liikkumattomuus on itsenäinen riskitekijä tekijä NAFLD:n kehittymiselle iästä, painosta, sukupuolesta ja insuliiniresistenssistä huolimatta (15). Liikunnan tiedetään vähentävän maksan rasvoittumista painon muutoksesta riippumatta (16).

Ravinnolla on merkitystä NAFLD:n kehittymisessä ja etenemisessä. Liiallinen energiansaanti on NAFLD:n riskitekijä (17). Runsaasti rasvaa sisältävä ruokavalio lisää maksan rasvoittumista, kun taas vähärasvainen ruokavalio vähentää sitä (18). Rasvan laadulla on havaittu olevan merkitystä. Tyydyttynyt rasva lisää maksan rasvoittumista huomattavasti enemmän kuin tyydyttymätön. Tyypillisiä tyydyttyneen rasvan lähteitä ruokavaliossa ovat rasvaiset maitovalmisteet, voi, voipohjaiset levitteet, monet leivonnaiset ja suklaa. Tyydyttyneet rasvat lisäävät maksan rasvoittumista lipolyysin kiihtymisen kautta. Lipolyysissä triglyseridit hydrolysoidaan glyseridiksi ja vapaiksi rasvahapoiksi. Insuliini estää lipolyysiä ja insuliiniresistenssi taas kiihdyttää sitä. (19) Myös fruktoosin runsas saanti on liittynyt eläinkokeissa NAFLD:iin ja ihmisillä fibroosin kehittymiseen NASH:ssa. Erityisesti makeutusaineena käytetty maissisiirappi sisältää runsaasti fruktoosia ja lisää maksan rasvoittumista. Toisaalta hedelmistä saatu fruktoosi ei lisää rasvoittumista vaan jopa suojelee siltä. Fruktoosin aiheuttama maksan rasvoittuminen tapahtuu *de novo* -lipogeneesin eli rasvahappojen uudistuotannon kautta. (20)

### 3.3 Genetiikka

Arviolta noin 30 % maksan rasvoittumisesta johtuu geneettisistä tekijöistä. Geneettisistä tekijöistä johtuvassa NAFLD:ssä tautiin ei liity yhtä vahvasti insuliiniresistenssiä, metabolista oireyhtymää tai tyyppin 2 diabetesta. Sydän- ja verisuonitautien riski ei ole yhtä suuri kuin ei-geneettisistä syistä

johtuvassa rasvamaksataudissa. Osa geenivarianteista on yleisiä väestössä. Onkin tavallista, että potilaalla on sekä metabolisista syistä johtuva NAFLD että geneettinen taipumus geenivariantin vuoksi. (21)

Yleisin maksan rasvoittumista lisäävä geneettinen variantti on *patatin-like phospholipase domain-containing protein 3:n (PNPLA3)* polymorfia I148M. Ajatellaan, että *PNPLA3* osallistuu triglyseridien hydrolysointiin glyseridiksi ja vapaiksi rasvahapoiksi. Geenivariantissa triglyseridien normaali hydrolysointi on häiriintynyt, jonka seurauksena rasvaa kertyy maksaan. Puhtaasti *PNPLA3:n* aiheuttamassa NAFLD:ssa metabolisten häiriöiden esiintyvyys ei ole suurentunut terveeseen väestöön nähden, ja sen vuoksi myös riski sydän- ja verisuonitauksille on matalampi kuin metaboliseen oireyhtymään liittyvässä NAFLD:ssa. Toisaalta *PNPLA3* osallistuu maksan tähtisoluisissa tapahtuvaan A-vitamiinimetaboliaan, joka saattaa olla syy, miksi steatohepatiitia esiintyy näillä potilailla enemmän. Riski NASH:n kehittymiselle on suurentunut 3,5 kertaiseksi ja kirroosin riski on lähes kaksinkertainen. (22)

Toinen geneettinen muutos on *transmembrane 6 superfamily member 2 (TM6SF2)* -geenissä sijaitseva *E167K* -variantti. Sen kantajilla VLDL-proteiinien erittyminen maksasta on heikentynyt, rasvaa kertyy maksaan ja siksi NAFLD:n riski on suurentunut. Geenivariantin kantajilla seerumin lipiditasot ovat alhaisemmat kuin ei-kantajilla. Steatoosi on kuitenkin vaikeampiasteinen, riski NASH:iin on suurempi ja fibroosia on enemmän. Koska VLDL-proteiinit kuljettavat rasvahappoja ja kolesterolia pois maksasta, maksan heikentynyt VLDL-proteiinien erityys on haitallista nimenomaan maksalle, ei niinkään sydämelle ja verisuonille. Variantin kantajat ovat pienemmässä riskissä sydän- ja verisuonitapahtumille kuin ei-kantajat. (23)

*Hydroxysteroid 17-beta dehydrogenase 13 (HSD17B13)* -geenin tuottama 17-beta-hydroksisteroidi-dehydrogenaasi 13 on maksaspesifinen proteiini. Sen fysiologinen merkitys on vielä epäselvä, mutta NAFLD-potilaiden maksassa sen ekspressio on lisääntynyt. *HSD17B13* edistää lipidien kertymistä maksaan. Ekspressio tapahtuu *PNPLA3:n* lailla maksan tähtisoluisissa ja vaikuttaa A-vitamiinimetaboliaan. *HSD17B13*-geenistä on olemassa suojaava geenivariantti. Tämä variantti on

liitetty NASH:n ja fibroosin pienempään esiintymiseen sekä matalampiin ALAT ja ASAT-arvoihin. Sen on havaittu suojaavan myös niitä potilaita, joilla on geneettinen alttius NAFLD:n kehittymiseen *PNPLA3:n* kautta. (24)

*Glukokinase Regulatory Protein (GCKR)*-geeni tuottaa glukokinaasin säätelyproteiinia (GCKR). Tätä proteiinia esiintyy hepatosyyteissä ja se osallistuu glukoosimetaboliaan glukokinaasi-entsyymin toimintaa säätelemällä. *GCKR*-geenin mutaatioiden on havaittu liittyvän metabolisiin häiriöihin, kuten monogeeniseen diabetekseen. Yhteys on havaittu myös histologisesti varmistettuun rasvamaksatautiin (25).

*MBOAT7* -geenin tuottama lyso-fosfatidyyl-inositoli-asetyylitransferaasi (LPIAT1) osallistuu fosfolipidien re-asetylointiin. Myös tämän geenin variantin on osoitettu liittyvän NAFLD:hen (26). Eläinmalleissa *MBOAT7* -puutoksen on havaittu johtavan fibroosiin (27).

### 3.4 Muut riskitekijät

On tavallista, että potilailla on useita tekijöitä rasvamaksan taustalla. Esimerkiksi alkoholin käyttö yhdistettynä metabolisiin riskitekijöihin ovat tavallista (1). Rasvamaksapotilailla, joilla alkoholin käyttö on alle riskikäytön rajan, voi alkoholi olla merkittävä steatoosin aiheuttaja ja lisätä vaikeiden maksapäätapahtumien riskiä. Toisin sanoen, vaikka potilaalla ei olisikaan alkoholirasvamaksatautia, voi kohtuullinenkin alkoholin käyttö olla NAFLD-potilaille haitallista. (28) Myös geneettisten tekijöiden vaikutus NAFLD:n kehittymiseen voi riippua ympäristötekijöistä. *PNPLA3* -geenivariantin kantajilla variantin vaikutukset ilmenevät sitä voimakkaammin mitä lihavampi potilas on (29).

Korkea ikä ja miessukupuoli lisäävät NAFLD:n riskiä. Miessukupuoli lisää riskiä kaksinkertaiseksi naisiin verrattuna. (6)

## 4. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin diagnostiikka

### 4.1 Diagnostiset kriteerit

NAFLD:n diagnoosi edellyttää, että rasvoittuminen on todennettu kuvantamalla tai histologisesti. Toiseksi alkoholin käytön on oltava kohtuullisuuden rajoissa (alkoholin päivittäinen käyttö  $\geq 20$  g naisilla ja  $\geq 30$  g miehillä). Kolmanneksi on selvítettävä, ettei steatoosi johdu muista syistä. Näitä syitä kuvataan tarkemmin seuraavissa kappaleissa. (1)

Rasvamaksan toteaminen edellyttää joko maksabiopsiaa, MRS-spektroskopiaa (magnetic resonance spectroscopy), magneettikuvausta (MRI), tietokonetomografiakuvausta (TT) tai ultraäänitutkimusta (UÄ). Raja-arvot patologiselle rasvoittumiselle riippuvat käytettävästä kuvantamismodaliteetista. MRS-kuvantamisella normaalin rasvaosuuden ylärajana voidaan pitää 5,56 %:a (30). MRI-PDFF-menetelmällä (proton density fat fraction, protonitiheyden perusteella määritetty rasvaosuus) tehdyissä tutkimuksissa on käytetty NAFLD:n määritelmänä havaittua 5 %:n rasvoittumista (31). TT-kuvantamisessa maksaa verrataan pernaan. HU-yksiköissä (Housefield Unit, Housefieldin yksikkö) mitattuna terve maksa eroaa pernasta maksimissaan 8–10 HU-yksikköä (32). UÄ on menetelmistä epätarkin, eikä standardoituja kriteereitä NAFLD:n toteamiselle UÄ:n perusteella ole. Ultraäänen herkkyyttä pienentää lisäksi korkea BMI (yli 40 kg/m<sup>2</sup>). (33) Epätarkkuudesta huolimatta se on silti helpon saatavuuden vuoksi kliinisessä työssä eniten käytössä. NASH:n toteaminen edellyttää toistaiseksi maksabiopsiaa. (1)

Alkoholin aiheuttama rasvamaksan (alcoholic fatty liver, AFL) poissulkuun (alkoholin päivittäinen käyttö  $\geq 20$  g naisilla ja  $\geq 30$  g miehillä) käytetään huolellista anamneesia, AUDIT-kyselyä, omaisen haastattelua ja mahdollisesti laboratoriokokeita tai edellä olevien yhdistelmää. Riskirajoja enemmän alkoholia käyttävät rasvamaksatautipotilaat lasketaan kuuluvaksi alkoholirasvamaksatautipotilaiksi (alcohol liver disease, ALD), vaikka piirteitä olisikin molemmista taudeista (34). Jotkin lääkkeet, kuten metotreksaatti, glukokortikoidit ja estrogeeni sekä luontaistuotteet, voivat aiheuttaa maksan rasvoittumista. Myös virushepatiitit suljetaan pois. Tarvittaessa, esimerkiksi jos potilaan taudinkuva

on epätyypillinen tai herää epäily perinnöllisestä maksasairaudesta, poissuljetaan myös muita harvinaisia maksan kertymä- ja immunologisia sairauksia kuten hemokromatoosi, alfa-1-antitrypsiinin puutos, Wilsonin tauti ja autoimmunihepatiitti. (1)

NASH:n diagnoosi on histologinen, joten sen toteaminen vaatii maksabiopsian. Biopsialla osoitetaan maksan rasvoittumista, maksasolujen vaurioita (ballooning) sekä maksan inflammaatiota. Lisäksi voidaan nähdä fibroosia, mutta tämän havaitsemista ei vaadita NASH-diagnoosiin. Biopsiaa ei tehdä kaikille, joilla NASH:ia epäillään, vaan potilasvalinnalla pyritään kohdistamaan biopsia kustannustehokkaasti niihin, joilla steatohepatiitin lisäksi riski esimerkiksi fibroosin kehittymiseen on suuri. Lisäksi, jos steatoosin etiologia on epäselvä tai vaikeusastetta on hankala luotettavasti arvioida, voidaan päätyä maksabiopsiaan. Biopsialla on kuitenkin oltava vaikutusta potilaan hoitopäätöksiin, erotusdiagnostiikkaan tai seurantaan. (1) Biopsialla voidaan myös erottaa NAFL ja NASH-potilaat toisistaan. Fibroosin tarkka määrä voidaan selvittää vain biopsialla. Biopsiaan liittyy kuitenkin haasteita, kuten toimenpiteen kustannukset ja saatavuus. Lisäksi koepalan otto on invasiivinen toimenpide, joten siihen liittyy infektio- ja verenvuotoriski. Koepala on pieni ja paikallinen otos maksasta, eikä siten aina kuvaa koko maksan tilaa, vaan kertoo ainoastaan koepalaan sattuneen kudoksen tilasta. (35)

Fibroosi on tärkein ennusteeseen vaikuttava tekijä. Kuolleisuus sydän- ja verisuonitauteihin sekä maksasairauksiin on huomattavasti lisääntynyt fibroosipotilailla. (36) Tämän vuoksi on kehitetty laskureita, joilla voidaan arvioida fibroosin riskiä seerumin merkkiaineista. Näistä yleisimmin käytössä ovat NAFLD Fibrosis Score (NFS) ja FIB-4-laskuri. Näillä laskureilla merkittävän fibroosin erottaminen on todennäköisempää ja lisäksi tarvitaan vain tavanomaisia ja helposti saatavilla olevia laboratoriotutkimuksia (ALAT, ASAT, trombosyytit) verrattuna muihin laskureihin. (37)

Jos herää epäily merkittävästä fibroosista, esimerkiksi laskurin perusteella, on epäily varmennettava. Ensisijaisesti edenneen fibroosin varmentamiseen käytetään transientti elastografia-mittausta (transient elastography, TE), joka mittaa maksan jäykkyyttä värähtelevän ultraääniäallon avulla. Ultraääni kulkee nopeammin fibroottisessa kuin terveessä kudoksessa. Mittauksella voidaan todeta

edennyt fibroosi tai kirroosi, mutta varhaisten fibroosimuutosten toteamiseen se ei ole luotettava. Toinen merkittävä haitta on sen huono soveltuvuus merkittävästi ylipainoisille ja niille, joilla on paksu rintakehä. Näiden potilaiden kohdallaan noin 20 %:lla saadaan vääriä tuloksia. Joskus fibroosin varmentamiseen käytetään TE-mittauksen jälkeen myös maksabiopsiaa. Uusia menetelmiä varhaisen fibroosin diagnosoimiseksi ilman maksabiopsiaa kehitetään, mutta nämä eivät ole vielä laajamittaisessa käytössä. (38)

## 4.2 Riskipotilaiden tunnistaminen

Suomalaisen Käypä hoito -suosituksen mukaan rasvamaksaa ei tarvitse seuloa potilailta, joilla on riskitekijöitä, kuten MBO tai tyypin 2 diabetes, eli pelkkää NAFL:ia ei tämänhetkisen suosituksen mukaan tarvitse erikseen diagnosoida. Tästä potilasryhmästä tulisi sen sijaan pyrkiä tunnistamaan ne potilaat, joilla rasvamaksatauti on edennyt NASH:ksi tai kirroosiksi tai riski taudin etenemiselle on suurentunut (8). American Association for the Study of Liver Disease:n (AASLD) vuonna 2018 julkaiseman suosituksen mukaan rutiininomainen NAFLD:n seulonta riskiryhmissä, kuten tyypin 2 diabetesta sairastavilla, ei vielä ole suositeltavaa johtuen tutkimusnäytön puutteesta ei-invasiivisten diagnostisten testien ja hoitomenetelmien suhteen. Tämän lisäksi pitkän aikavälin tutkimusnäyttöä puuttuu seulonnan kustannustehokkuudesta. (1)

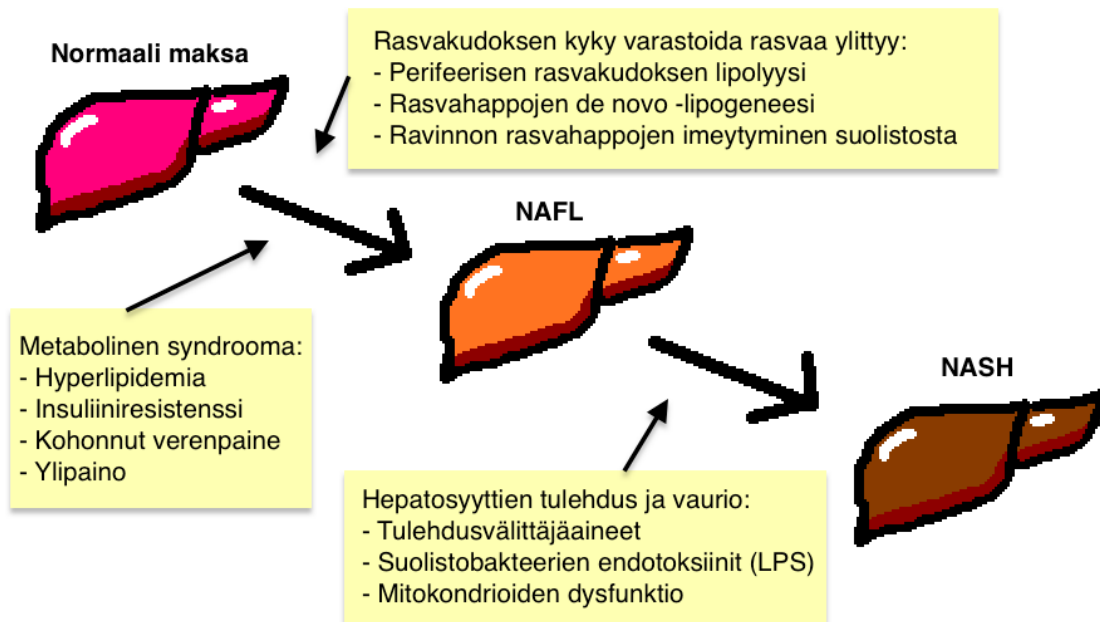
Yleisesti maksasairauksien diagnostiikassa ja seurannassa käytettäviä transaminaasiarvoja (ALAT ja ASAT) ei pelkästään voida käyttää rasvamaksataudin seulontaan, koska NAFLD-potilaista noin puolella aminotransferaasit ovat viitealueella. Aminotransferaaseja voivat NAFLD:n ohella nostaa muutkin tekijät kuten lääkkeet, virushepatiitit ja maksan autoimmuunisairaudet. (39)

## 5. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin patogeneesi

### 5.1 Ei-alkoholiperäinen rasvamaksa

Kun rasvakudoksen kyky varastoida verenkierron vapaita rasvahappoja (free fatty acids, FFA) ylittyy, alkaa rasvaa kertyä maksaan. NAFL:ssä hepatosyytteihin kertyvä rasva on pääosin vapaista rasvahapoista syntetisoituja triglyserideja (40). Verenkierron vapaat rasvahapot voivat päätyä maksaan kolmella eri tavalla (Kuva 2). Yleisin syy (60 %) on lisääntyneen perifeerisen rasvakudoksen lipolyysissä vapautuneiden rasvahappojen kerääntyminen maksaan. Insuliiniresistentillä potilaalla insuliinin kyky estää lipolyysiä on heikentynyt. Tällöin syntyy noidankehä, jossa rasvahappoja vapautuu lipolyysin seurauksena verenkiertoon vielä entistä enemmän. Maksan rasvoittuminen lisää puolestaan insuliiniresistenssiä. Kun maksa on rasvoittunut, insuliinin kyky estää glukoneogeneesiä ja VLDL-partikkelien eritystä heikkenee. Triglyseridien ja kolesterolin erityks maksasta verenkiertoon lisääntyy. (41) Toinen tapa (25 %), jolla verenkierron rasvahapot päätyvät maksaan, on rasvahappojen *de novo* -lipogeneesi eli rasvahappojen uudistuotanto, joka lisää rasvoittumista. NAFLD:ssä *de novo* -lipogeneesi on lisääntynyt kolminkertaiseksi. (42) Kolmas vaihtoehto (15 %) rasvahappojen päätymiseksi maksaan on ruokavalion rasvahappojen imeytyminen suolistosta. Imeytyminen lisääntyy runsasrasvaisen aterian jälkeen. Suolistosta rasvahapot pakataan kylomikroneihin ja kuljetetaan imuteitä pitkin maksaan, jonne ne kertyvät. (43)





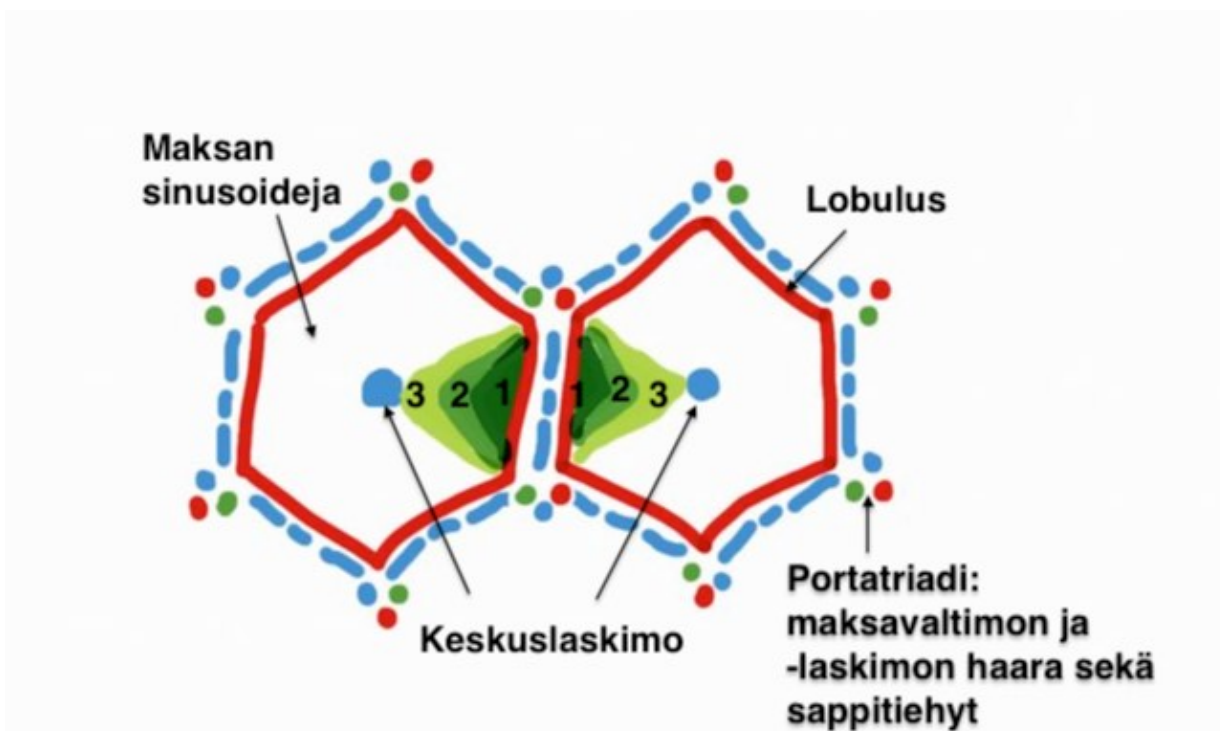
Kuva 2. Rasvamaksataudin patogeneesi. Lipidit kertyvät maksaan perifeerisen rasvakudoksen varastointikyvyn ylittyessä. Metabolinen syndrooma edesauttaa maksan rasvoittumista. Rasvamaksan (NAFL) kehittyminen steatohepatiitiksi (NASH) vaatii hepatosyyttivaurion laukaisevan tekijän.

## 5.2 Ei-alkoholiperäinen steatohepatiitti

Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin eteneminen steatohepatiitiksi vaatii aina yhden tai useamman laukaisevan tekijän. On vielä epäselvää, miksi NASH kehittyy vain osalle NAFL-potilaista. (44) Erääksi laukaisevaksi tekijäksi on ehdotettu suolistobakteerien endotoksiineja, jotka aiheuttavat oksidatiivista stressiä ja mitokondrioiden dysfunktioita (11). Kupfferin soluilla (maksassa toimivilla makrofageilla) ja tulehduksen välittäjäaineilla on merkitystä tulehduksen ja kudosaaurioiden syntymisessä ja korjaantumisessa (45). Inflammaation vuoksi maksan tähtisolut tuottavat sytokiineja ja kasvutekijöitä. Ne edesauttavat fibroosin muodostumista aktivoimalla fibrinogeneesiä (46).

Maksa voidaan jakaa toiminnallisesti asinuksiin (Kuva 3). Asinus jakautuu hapetuksen ja ravinnonsaannin mukaan kolmeen eri vyöhykkeeseen. Asinuksessa keskimmäisenä sijaitseva

vyöhyke 1 saa eniten hapekasta ja ravinteikasta verta. Myös ruoansulatuksesta tuleva veri pääsee ensimmäisenä vyöhykkeelle 1, joten se on alttiina esimerkiksi toksiineille. Vyöhyke 3 sijaitsee asinuksesta katsottuna kauimpana, mutta on lähinnä keskuslaskimoa. Se kärsii ensimmäisenä hapenpuutteesta. Rasvamaksan rasvapisarat kertyvät ensimmäisenä tälle alueelle. Myös NASH:n vauriot ilmenevät eniten 3. vyöhykkeellä. Koepalassa havaitaan maksasolujen paisumisesta johtuvaa vaurioitumista (ballooning) sekä nekroosia keskuslaskimon läheisillä alueilla rasvan keskellä (47). Samoilla alueilla saattaa myös ilmetä lievää tulehdusta ja sinusoidien ympärillä voi esiintyä fibroosia. (47)



Kuva 3. Maksan asinusten vyöhykkeet. Rasvamaksataudissa rasvapisarat ja NASH:n vauriot kertyvät ensimmäisenä kolmannelle vyöhykkeelle.

Maksasolusyöpä (hepatocellular carcinoma, HCC) on maksan yleisin primaarisyöpä. Sen tärkein riskitekijä on kirroosi, jota aiheuttavat muun muassa virusinfektiot, alkoholi ja NASH. NASH-potilaista kirroosi kehittyy noin 15 %:lle ja näistä 4–27 %:lla se etenee HCC:ksi. Osalle NAFLD-potilaista kehittyy HCC ilman fibroosia. Ilman fibroosia kehittyvän HCC:n patogeneesi on osittain tuntematon.

Tiedetään kuitenkin, että se on monitekijäinen ja korreloi vahvasti lihavuuden sekä tyypin 2 diabeteksen kanssa. Matala-asteinen krooninen tulehdus, lisääntynyt lipidien varastointi, lipopolysakkaridien lisääntyminen suoliston mikrobiston muuntuessa sekä insuliiniresistenssi ovat yhteydessä lihavuuteen ja tyypin 2 diabetekseen, ja osallistuvat HCC:n kehittymiseen. Myös geneettiset tekijät vaikuttavat HCC:n riskiin. (48)

## 6. Suoliston mikrobisto ja ei-alkoholiperäinen rasvamaksatauti

### 6.1 Yleistä

Suoliston mikrobisto kattaa kaikki suolessa elävät mikro-organismit, joihin bakteerien lisäksi kuuluu viruksia ja sieniä. Mikrobiston koostumus on aina isäntäkohtainen ja se muuttuu ja kehittyy koko ihmisen elämän ajan. Suolistomikrobeista bakteereita on tutkittu eniten. Eri bakteerien pääjaksoja on tunnistettu ihmiseltä yli 50. Pääjaksoista runsaslukuisimmat ovat *Bacteroidetes* ja *Firmicutes*. Näiden lisäksi *Actinobacteria*- ja *Proteobacteria*-ryhmät kuuluvat yleisimpiin pääjaksoihin. (49) Uutta tutkimustietoa suoliston mikrobistosta saadaan lisää tutkimusmenetelmien kehittyessä ja uusia mikrobeja tunnistettaessa ja tutkittaessa.

Normaali suoliston mikrobisto edistää ihmisen terveyttä useilla eri mekanismeilla, kuten pilkkomalla kuituja ja estämällä patogeenien kolonisaatiota suolistossa. Haitallisia vaikutuksia ovat toimiminen inflammaation tai infektion lähteenä, osallistuminen joidenkin suolistosairauksien kehittymiseen ja mahdollisesti vaikutus ylipainon ja tyypin 2 diabeteksen kehittymiseen. (50)

Suoliston mikrobiston vaikutusmekanismeja NAFLD:n patogeneesiin on tunnistettu useita. Suolistomikrobien tuottamien aineenvaihduntatuotteiden, kuten lyhytketjuisten rasvahappojen tai etanolin, vaikutusta maksasairauksien kehittymiseen on tutkittu sekä eläinkokeissa että kliinisissä tutkimuksissa. (51) Ajatellaan, että suoliston bakteerit voisivat olla osallistumassa maksasairauksien, kuten NAFLD:en, kehittymiseen, koska bakteerien aineenvaihduntatuotteita ja solujen osia päätyy suolistosta verenkiertoon ja sieltä ensimmäisenä maksaan. (52) Tiedetään, että suoliston mikrobiston monimuotoisuus vaikuttaa rasvamaksataudin kehittymiseen. Hiirillä tehdyissä tutkimuksissa on havaittu, että mikrobistolla on vaikutusta energian imeytymiseen suolistosta (51). Useista muistakin tutkimuksista on saatu näyttöä siitä, että muuntuneella suoliston mikrobistolla ja lihavuudella on yhteys. Koska lihavuus on NAFLD:n tärkein riskitekijä, lihavuutta aiheuttavat suoliston mikrobiston muutokset saattavat aiheuttaa myös NAFLD:ta. (52)

## 6.2 Suolistomikrobien tuottamat lyhytketjuiset rasvahapot

Lyhytketjuiset rasvahapot (short-chain fatty acids, SCFA:t) ovat suolistomikrobien tuottamia aineenvaihduntatuotteita, joita syntyy anaerobisesti polysakkaridien, kuten ravintokuitujen ja resistentin tärkkelyksen, käymisprosessin lopputuotteina. SCFA:t osallistuvat energia-aineenvaihdunnan säätelyyn, ja niillä saattaa olla vaikutusta lihavuuden kehittymisessä (52).

Suolistomikrobien SCFA:n tuotanto on ylipainoisilla ja lihavilla runsaampaa kuin hoikilla. SCFA:sta ainakin butyraatin, asetaatin ja propionaatin on havaittu osallistuvan energia-aineenvaihduntaan ja ruokahalun säätelyyn. (53) Butyraatin on eläinmalleissa havaittu lisäävän energian kulutusta sekä parantavan insuliiniherkkyyttä ja immuunijärjestelmän toimintaa (54). Myös asetaatilla on havaittu vaikutuksia ruokahuuun. Hiirikokeissa asetaatti-injektion saaneilla hiirillä ruokahalu oli huomattavasti pienentynyt sekä tunnin että kahden tunnin päästä injektioista. Asetaatin havaittiin lisäävän ruokahalua heikentävien ja vähentävän ruokahalua lisäävien neuropeptidien ekspressiota. (55)

Suoliston mikrobiston merkitystä ravinnon imeytymiseen on tutkittu hiirillä, joiden suoliston mikrobisto oli poistettu. Näiden hiirten paino nousi nopeasti ulosteensiirron jälkeen, jos ne olivat saaneet ulostetta lihavalta hiireltä, ja näin altistuneet lihavan hiiren suoliston mikrobistolle. (56) On ehdotettu, että syy tähän olisi glukagonin kaltaisen peptidi 2:n (GLUT2) välittämä SCFA:n kautta tapahtuva glukoosin lisääntynyt imeytyminen suolistosta. Tämän ajatellaan johtuvan siitä, että GLUT2-reseptoreiden hajoamista estetään, jolloin niiden määrä lisääntyy. (57) Hiirillä SCFA:n suotuisat vaikutukset energia-aineenvaihduntaan ja maksan toimintaan vaikuttaisivat välittyvän PPAR-gamma (peroxisome proliferator-activated receptor gamma) -peptidin kautta (58). PPAR-gamma on keskeinen rasvahappojen ja glukoosin metaboliaan vaikuttava tumareseptori.

### 6.3 Lipopolysakkaridit tulehduksen välittäjinä

Lipopolysakkaridit (LPS) ovat rasvan ja hiilihydraatin muodostamia suuria molekyyliä, joita on erityisesti gram-negatiivisten bakteerien ulkokalvossa. Lipopolysakkarit toimivat tulehdusta lisäävinä endotoksiineina. Niillä saattaa olla myös vaikutusta insuliiniresistenssin kehittymiseen. LPS:t aktivoivat luontaista immuniteettia stimuloimalla toll-like reseptoreita (TLR) ja saavat näin aikaan tulehdusvälittäjäaineiden, kuten leptiinin ja interleukiini-6:n (IL-6), erittymisen ja akuutin faasin reaktion käynnistymisen. Sekä NAFL- että NASH-potilailla on havaittu huomattavan kohonneita seerumin LPS-pitoisuuksia. Ei ole täyttä varmuutta siitä, ovatko lisääntyneet LPS-pitoisuudet NAFLD:n seurausta vai osa taudin patogeneesiä. (59)

Eräessä tutkimuksessa *Escherichia coli* -bakteerien lipopolysakkarideja tutkittiin biopsiavarmennetuilla NAFL- ja NASH-potilailla sekä hiirillä, joilla oli NASH. Erästä toll-like reseptoria, TLR4:ää, ilmentäviä makrofageja esiintyi NASH-potilailla enemmän kuin NAFL-potilailla tai terveillä verrokeilla. TLR4-positiivisten makrofagien määrän havaittiin korreloivan seerumin *Escherichia coli*:n LPS:n määrän kanssa. NASH-hiirillä TLR4-inhibiittori vähensi inflammaation astetta maksassa. LPS:n tulehdusta aiheuttavan vaikutuksen voidaan siis ajatella välittyvän TLR:n kautta. (60)

Transmembraaniproteiini 173 (stimulator of interferon genes, STING) lisää sekä ihmisillä että eläinmalleissa käytetyillä hiirillä tyypin 1 interferonien tuotantoa. Nämä interferonit osallistuvat luontaiseen immuniteettiin stimuloimalla lymfosyyttien, makrofagien ja muiden puolustussolujen toimintaa. LPS:n osallisuutta tulehdusreaktioon on tutkittu hiirillä, joiden STING-proteiinin koodausta on häiritty. Näillä hiirillä makrofagien reaktio LPS:n aiheuttamalle tulehdusreaktiolle oli vaimeampi kuin kontrollihiirillä. (61)

### 6.4 Suoliston mikrobiston koostumus

Yleisimmistä suolistobakteereista *Firmicutes*-pääjakson lajit on liitetty runsaampaan lihavuuden esiintymiseen ja *Bacteroidetes*-pääjakson lajit taas lihavuuden vähenemiseen. Tästä syystä usein

arvioidaan *Firmicutes/Bacteroidetes* -suhdetta. Suhteen on havaittu olevan hoikilla ihmisillä matalampi kuin lihavilla. Toisaalta runsaasti urheilevilla suhde on kuitenkin korkea. Lisäksi on tunnistettu tiettyjä bakteerilajeja, joilla on vaikutusta metabolisen oireyhtymän osatekijöihin tai niiden ehkäisyyn. Esimerkiksi *Faecalibacterium prausnitzii* on suolen bakteeri, jolla ajatellaan olevan suotuisa vaikutus terveyteen ja energia-aineenvaihduntaan. Sillä on anti-inflammatorisia ominaisuuksia, kuten proinflammatoristen sytokiinien estäminen sekä anti-inflammatoristen interleukiini-10:n tuottaminen. *Faecalibacterium prausnitzii* pieni määrä on liitetty useisiin sairauksiin, kuten rasvamaksatautiin ja liikalihavuuteen. NAFLD-potilailla on raportoitu matalia *Faecalibacterium prausnitzii* määriä. (62)

Normaalisti ohutsuolessa kasvaa vain pieni määrä bakteereita. Bakteerikasvua estävät mahahapon happamuus, haiman entsyymit sekä ohutsuolen peristaltiikka. Osalla NAFLD-potilaista on ohutsuolen bakteerien ylikasvua, ja sitä on havaittu esiintyvän myös ylipainoisilla sekä tyypin 2 diabetesta ja metabolisesta oireyhtymää sairastavilla. (63)

NAFLD-potilaiden suolistobakteerien pääjaksoissa havaitut muutokset eivät ole täysin yksiselitteisiä. Eri tutkimuksissa on osittain ristiriitaista näyttöä esimerkiksi *Firmicutes*- ja *Bacteroidetes*-lajien muutoksista NAFLD-potilailla, kuten alla olevasta taulukosta (Taulukko 2) ilmenee.

TAULUKKO 2. Bakteerien pääjaksoissa havaitut muutokset NAFLD-potilailla eri tutkimuksissa.

Pääjakso	Muutos NAFLD-potilailla	Löydökset	Tutkimuksen koko	Lähde
<i>Firmicutes</i>	+	NAFLD-potilailla havaittiin terveisiin verrokeihin nähden suurentunut <i>Firmicutes</i> -määrä. Poikkeuksena havaittiin <i>Firmicutes</i> -pääjaksoon kuuluvien <i>Ruminococcacea</i> -suvun bakteereiden alentunut määrä.	NAFLD-potilaita 30, verrokkeja 30, yht. n= 60	(64)
	+	Pediatriisilla NASH-potilailla <i>Firmicutes</i> -määrä oli suurempi kuin NAFL-potilailla. Obeeseilla lapsilla ilman NAFLD-diagnoosia <i>Firmicutes</i> -määrä oli pienempi ja terveillä verrokeilla määrä oli pienin. Löydös ei ollut tilastollisesti merkitsevä (p=0,06)	NAFLD-potilaita ja ylipainoisia 61, verrokkeja 54, yht. n=115	(65)
	-	NASH-potilailla sekä obeeseilla havaittiin alentunut <i>Firmicutes</i> -määrä terveisiin verrokeihin nähden. Poikkeuksena <i>Firmicutes</i> -pääjaksoon kuuluvien <i>Clostridiales</i> -suvun bakteereiden suurentunut määrä.	NASH-potilaita 22, ylipainoisia 25, verrokkeja 16, yht. n=63	(66)
<i>Actinobacteria</i>	-	NASH-potilailla havaittiin alentunut <i>Actinobacteria</i> -määrä obeeseihin ja terveisiin potilaisiin verrattuna.	NASH-potilaita 22, ylipainoisia 25, verrokkeja 16, yht. n=63	(66)
<i>Bacteroidetes</i>	-	NASH-potilailla havaittiin alentunut <i>Bacteroidetes</i> -määrä verrattuna NAFL-potilaisiin ja terveisiin verrokeihin. Löydös havaittiin riippumattomaksi BMI:stä ja ravinnon energiapitoisuudesta.	NAFL-potilaita 11, NASH-potilaita 22, verrokkeja 17, yht. n= 50	(67)
	-	Pediatriisilla NASH-potilailla <i>Bacteroidetes</i> -määrä oli vähäisempi kuin NAFL-potilailla ja selvästi vähäisempi kuin obeeseilla lapsilla ilman NAFLD-diagnoosia. Terveillä verrokeilla <i>Bacteroidetes</i> -määrä oli suurin.	NAFLD-potilaita ja ylipainoisia 61, verrokkeja 54, yht. n=115	(65)



	-	NAFLD-potilailla havaittiin alentunut määrä <i>Bacteroidetes</i> -pääjaksoon kuuluvan <i>Porphyromonadaceae</i> -suvun bakteereita.	NAFLD-potilaita 30, verrokkeja 30, yht. n= 60	(64)
	+	NAFLD-potilailla sekä obeeseilla verrokeilla havaittiin terveisiin verrokkeihin nähden suurentunut <i>Bacteroidetes</i> -bakteerien määrä.	NASH-potilaita 22, ylipainoisia 25, verrokkeja 16, yht. n=63	(66)
<i>Proteobacteria</i>	+	NASH-potilailla havaittiin suurentunut <i>Proteobacteria</i> -määrä verrattuna obeeseihin verrokeihin, ja vielä enemmän suurentunut verrattuna terveisiin verrokeihin.	NASH-potilaita 22, ylipainoisia 25, verrokkeja 16, yht. n=63	(66)
	+	NAFLD-potilailla havaittiin suurentunut <i>Proteobacteria</i> -määrä verrattuna terveisiin verrokkeihin.	NAFLD-potilaita 30, verrokkeja 30, yht. n= 60	(64)

## 6.5 Suolistomikrobien tuottama etanoli

Suoliston mikrobit tuottavat alkoholia. *In vitro* -tutkimuksissa suolistossa esiintyvien mikrobien kuten *Lactobacillus fermentum*- ja *Weissella confusa* -lajien bakteerien on osoitettu tuottavan suuria määriä etanolia glukoosista ja fruktoosista (68). Myös *Clostridium* -suvun bakteerien on havaittu kykenevän endogeeniseen etanolintuotantoon. Laajassa suomalaisessa väestötutkimuksessa havaittiin *Clostridium*-suvun bakteereita esiintyvän NAFLD-potilailla verrokkiväestöä enemmän. (69) Alkoholimaksasairaudessa etanoli on ensisijainen maksavaurioon ja fibroosiin johtavan reaktion käynnistäjä. Bakteerien tuottama etanoli voi mahdollisesti olla osatekijänä aiheuttamassa maksan rasvoittumista ja fibroosia NAFLD-potilailla. Bakteerien tuottamaa etanolia on tutkittu lihavilla hiirillä, joilla uloshengitysilman etanolipitoisuus oli normaalipainoisia verrokkeja korkeampi, vaikka hiirten ruokavalioon ei kuulunut alkoholia (70). Uloshengitysilman etanolia havaittiin suurempia määriä myös raittiilta lihavilta henkilöiltä verrattuna raittiisiin normaalipainoisiin henkilöihin. (71) Tämä voisi selittyä sillä, että NAFLD-potilailla suolistomikrobit tuottavat suurempia määriä etanolia.

## 6.6 Muut

Sappihapot osallistuvat lipidien ja rasvaliukoisten vitamiinien emulgoinnin lisäksi laajemminkin energia-aineenvaihduntaan. Sappihapot toimivat kolesterolimetaboliaa rajoittavan Farnesoid X -reseptorin (FXR) ligandina maksassa. NASH-potilailla on eräässä tutkimuksessa havaittu terveitä verrokkeja korkeampia paastosappihappopitoisuuksia plasmassa. Samassa tutkimuksessa NASH-potilailta mitattiin korkeampia leptiini- ja fibroblastikasvutekijä 21 (FGF21) -pitoisuuksia. (72) Suoliston mikrobisto vaikuttaa sappihappojen diversiteettiin ja koostumukseen, ja häiriintynyt sappihapposignaalointi on liitetty muutoksiin suoliston mikrobistossa NAFLD-potilailla ja korkeaenergistä ruokavaliota saaneilla hiirillä (73).

Koliini on ihmisille välttämätön ravintoaine, jonka yhteys rasvamaksatautiin on todettu useissa tutkimuksissa. Koliinia saadaan esimerkiksi kananmunan keltuaisista, lihasta, viljoista ja sisäelimistä. Vähän koliinia sisältävä ruokavalio on yhteydessä NAFLD:n kehittymiseen ja maksavaurioon. (74) Suoliston mikrobisto vaikuttaisi tutkimusten perusteella osallistuvan koliiniaineenvaihduntaan ja mahdollisesti tätä kautta rasvamaksataudin kehittymiseen. Esimerkiksi hiirillä antibioottikuurin on osoitettu vaikuttavan koliinin metaboliaan suolistossa (75).

Suolistobakteerien suolen seinämän läpäisevät metaboliitit pääsevät kulkeutumaan maksaan suoraan porttilaskimon kautta. On esitetty, että lisääntynyt suoliston permeabiliteetti mahdollistaisi suolistomikrobien tuottamien tai käsittelemien aineiden, kuten SCFA:n tai LPS:n, lisääntyneen kulkeutumisen maksaan (76). Hiirimalleissa on todettu suoliston permeabiliteetin lisääntyneen rasvaista ruokavaliota noudattaneilla hiirillä (77).

## 7. Liikunnan yhteys suoliston mikrobistoon

### 7.1 Havaitut muutokset suoliston mikrobistossa

Useissa tutkimuksissa liikunnan on osoitettu muuntavan suoliston mikrobistoa. Vaikutukset näyttävät riippuvan liikunnan laadusta ja intensiteetistä. Liikunnan vaikutus suoliston mikrobistoon on itsenäinen ilman painon muutoksen tai ruokavalion vaikutusta.

Säännöllinen liikunta vahvistaa immunitaattia. Liikunnan tulehdusta ehkäisevät vaikutukset ilmenevät niin systeemitasolla kuin elinkohtaisestikin. Lisäksi liikunta tehostaa hiilihydraattimetaboliaa. Liikunnan on havaittu ylläpitävän terveyden kannalta edullista ja monimuotoista suoliston mikrobistoa. Koska suoliston mikrobiston koostumus ei ole stabiili, vaan muuntuu jatkuvasti, on liikunnan oltava säännöllistä. Urheilijoilla suoliston mikrobiston on havaittu olevan monimuotoisempi verrattuna liikunnallisesti inaktiivisiin. (78)

Irlantilaisessa tutkimuksessa verrattiin 40 ammattilaisrugbypelaajaa 46:teen inaktiiviseen verrokkiin. Huomattiin, että suoliston mikrobisto oli monimuotoisempi ja neljäkymmenen eri bakteerilajin suhteellinen osuus oli suurempi pelaajilla kuin verrokeilla. Rugbypelaajilla havaittiin myös olevan pienempi osuus *Bacteroidetes*- ja *Lactobasillus*-lajeja. (79)

Samasta irlantilaisesta ammattiurheilijoiden aineistosta tehdyssä tutkimuksessa todettiin, että urheilijoilla oli lisääntynyt aminohappojen ja antibioottien biosynteesi. Myös ulosteen SCFA-tasojen havaittiin olevan korkeammat verrattuna inaktiivisiin verrokkeihin (osalla korkea BMI, osalla matala). (78)

Neljäkymmentä premenopausaalisia naista käsittäneessä tutkimuksessa suolistomikrobiomin koostumusta tutkittiin normaalipainoisilta (BMI 20–25 kg/m<sup>2</sup>) naisilta. Heistä 19 oli aktiivisia ja liikkuvat vähintään kolme tuntia viikossa. Verrokkeja oli 21 ja he harrastivat alle kolmekymmentä

minuuttia fyysistä aktiivisuutta enintään kolmena päivänä viikossa. Tutkijat huomasivat, että aktiivisesti liikkuvilla oli enemmän *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia hominis* ja *Akkermansia muciniphila*-lajeja kuin verrokeilla. *Faecalibacterium prausnitzii* ja *Roseburia hominis* tuottavat butyraattia ja *Akkermansia muciniphila* on yhdistetty matalampaan BMI:in ja metabolisten sairauksien matalampaan esiintymiseen. (80)

Yhdysvaltalaisessa tutkimuksessa selvitettiin kestävyyskunnan yhteyttä suoliston mikrobistoon. Tutkittavina oli 37 nuorta aikuista, joilla oli vaihteleva kestävyyskunto. Tutkimuksessa selvisi, että korkeampi *Firmicutes/Bacteroidetes* -suhde korreloi paremman maksimaalisen hapenottokyvyn kanssa. (81) Tässä tutkimuksessa *Firmicutes/Bacteroidetes*-suhteen ei kuitenkaan havaittu korreloivan BMI:n kanssa ja tulos on sikäli ristiriitainen useissa tutkimuksissa ylipainoisilla havaittuun korkeaan *Firmicutes*-määrään ja matalaan *Bacteroidetes*-määrään.

Samaa aihetta käsittelee myös nuorilla 18–35-vuotiailla aikuisilla tehty tutkimus. Tutkittavana oli 39 henkilöä, joilla oli vaihteleva kestävyyskunto. Tutkimuksessa havaittiin yhteys paremman kestävyyskunnan ja suoliston mikrobiston monimuotoisuuden sekä suuremman butyraattia tuottavien bakteerien määrän välillä. (82)

Poikkileikkaustutkimuksiin liittyy ongelmia. Esimerkiksi ruokavalion vaikutusta on hankala hallita, koska yksilöiden välillä on huomattavia eroja ruokavaliossa. Lisäksi liikunnallisesti aktiivisilla on usein taipumus syödä eri lailla kuin inaktiivisilla. Tästä syystä poikkileikkaustutkimusten perusteella ei voida vetää suoria johtopäätöksiä siitä, muuttaako liikunta itsenäisesti suoliston mikrobistoa. (83)

Pitkittäistutkimuksissa on saatu viitteitä liikunnan itsenäisestä vaikutuksesta suoliston mikrobistoon. Muutosten ilmenemiseen tarvitaan pitkä aikajänne ja liikunnan intensiteetin on todennäköisesti oltava korkea. Lisäksi sekoittavana tekijänä saattaa olla se, että hoikkien henkilöiden mikrobiston mahdollisia muutoksia voi olla helpompi havaita kuin lihavien.

Yhdysvaltalaisessa tutkimuksessa, jossa selvitettiin liikunnan vaikutuksia suoliston mikrobistoon, oli tutkittavana 32 inaktiivista aikuista. Näistä 14 oli lihavia (BMI yli 30 kg/m<sup>2</sup>) ja 18 normaalipainosia (BMI alle 25 kg/m<sup>2</sup>). Tutkittavat olivat iältään 25–45-vuotiaita. Tutkittavat osallistuivat kuuden viikon mittaiseen liikuntainterventioon, jossa oli asteittain kasvavaa kohtalaista tai kovaa aerobista liikuntaa sisältävää harjoittelua 30–60 minuuttia kerrallaan kolmesti viikossa. Näiden kuuden viikon jälkeen oli yhtä pitkä ajanjakso, jolloin palattiin takaisin inaktiiviseen elämäntyyliin. Lisäksi varmistettiin, että ruokavalio säilyi samanlaisena koko tutkimuksen ajan. Selvisi, että mikrobistossa tapahtui muutoksia, mutta ne olivat BMI-riippuvaisia. *Faecalibacteriumin* määrä lisääntyi hoikilla ja väheni obeeseilla, kun taas *Bacteroidetes*-lajit lisääntyivät obeeseilla ja vähenivät hoikilla. Muutokset tapahtuivat päinvastaiseen suuntaan jälkimmäisen kuuden viikon aikana, kun tutkittavat palasivat takaisin viettämään inaktiivista elämää. (84)

Toinen pitkittäistutkimus selvitti liikunnan lisäksi hera-proteiinilisän käytön vaikutusta suoliston mikrobistoon. Yhdeksänkymmentä 18–40-vuotiasta irlantilaista tutkittavaa jaettiin kolmeen ryhmään, joissa kaikissa oli kolmekymmentä tutkittavaa. Painoindeksi vaihteli 22–35 kg/m<sup>2</sup> välillä, mutta suurin osa oli joko ylipainoisia tai lihavia. Ensimmäinen ryhmä osallistui liikuntainterventioon, osa sai heraproteiinia liikuntainterventio lisäksi ja kolmas ryhmä sai vain heraproteiinia eikä osallistunut lainkaan liikuntainterventioon. Tutkimus kesti kahdeksan viikkoa eli pidempään kuin useat muut vastaavat tutkimukset. Liikunta oli kohtalaisen intensiteetin tasolla tapahtuvaa vuorotellen aerobista harjoittelua ja lihaskuntoharjoittelua progressiivisesti kasvaen kolmesti viikossa. Tutkimuksessa selvisi, että bakteerien monimuotoisuus lisääntyi liikunta- ja liikunta + heraproteiiniryhmissä enemmän kuin pelkkää heraproteiinia saavassa ryhmässä. Mikrobikoostumuksessa ei havaittu muutoksia. Tutkimuksessa sekoittavina tekijöinä oli kuitenkin tutkittavien itsensä huolehdittavana ollut ruokavalion pysyvyys sekä tutkittavien BMI:n laaja kirjo. (85)

Suomalaisessa pitkittäistutkimuksessa tutkittiin aiemmin inaktiivisia, ylipainoisia naisia, joille tehtiin kuusi viikkoa kestävä matalan tai keskitason intensiteetin liikuntainterventio polkupyöräergometrialla kolmesti viikossa. Tutkittavien BMI oli yli 27,5 kg/m<sup>2</sup>. Tuloksena havaittiin suhteellisen *Akkermansia* määrien lisääntyminen ja *Proteobacterian* väheneminen, mutta tämä tapahtui vain puolelle liikuntaan

osallistuneista tutkittavista. Liikuntaharjoitukset vähensivät kuitenkin fruktoosin ja aminohappojen metaboliaan osallistuvien geenien ekspressiota. (86)

TAULUKKO 3. Kooste liikunnan vaikutuksista suoliston mikrobistoon.

Poikkileikkaustutkimukset

Tutkimus	Aineisto	Päätulokset	Ruokavalio
Clarke (79)	Rugbypelaajia (n=40) ja kontrolleina inaktiivisia, joilla matala BMI (n=23) sekä inaktiivisia, joilla korkea BMI (n=23)	Pelaajilla havaittiin suurempi osuus 40:ää eri bakteerilajia hoikkiin kontrolleihin verrattuna. Lisäksi pelaajilla <i>Bacteroidetes</i> - ja <i>Lactobacillus</i> -pääjaksojen määrät olivat pienempiä	Pelaajat kuluttivat enemmän energiaa ja proteiinia. Lisääntynyt proteiinin käyttö liittyi moniin havaittuihin suoliston mikrobiston muutoksiin
Barton (78)	Rugbypelaajia (n=40) ja kontrolleina inaktiiveja, joilla matala BMI (n=22) sekä inaktiivisia, joilla korkea BMI (n=24)	Pelaajilla oli lisääntynyt aminohappojen ja antibioottien biosynteesi, hiilihydraattien metabolia ja ulosteessa lisääntynyt määrä SCFA:ta verrattuna kontrolleihin	Pelaajat kuluttivat merkittävästi enemmän energiaa ja proteiinia
Bressa (80)	Naisia (BMI 20-25 kg/m <sup>2</sup> ), joilla fyysistä aktiivisuutta yli 3 h/vko (n=19) sekä naisia, joilla fyysistä aktiivisuutta alle 30 min kolmena päivänä viikosta (n=21)	Lisääntynyt suhteellinen osuus <i>F.prausnitzii</i> -, <i>R. hominis</i> - ja <i>A. muciniphila</i> -bakteereita.	Aktiivisten ryhmässä enemmän kasvixia ja hedelmiä ruokavaliossa, kun taas inaktiivisilla enemmän prosessoitua lihaa
Durk (81)	Nuoria aikuisia, joilla vaihteleva kestävyyskunto. Osa miehiä (n=20) ja osa naisia (n=17)	Firmicutes/Bacterioidetes -suhde korreloi merkittävästi maksimaalisen hapenottokyvyn kanssa, mutta ei BMI:n kanssa	Ei havaittu yhteyttä hiilihydraattien, proteiinien ja rasvan saannissa
Estaki (82)	Terveitä 18-35-vuotiaita aikuisia (n= 39), joilla vaihteleva kestävyyskunto. Miehiä 22 ja naisia 17	Paremmassa aerobisessa kunnossa olevilla oli enemmän butyraattia tuottavia bakteereita ja lisääntynyt ulosteen butyraattikonsentraatio kuin heikommassa kunnossa olevilla. Lisäksi hyvä aerobinen kunto korreloi suoliston mikrobiston monimuotoisuuden kanssa.	Proteiinin saanti liittyi voimakkaasti mikrobiston muutokseen
Yang (87)	Premenopausaalisia suomalaisia naisia, joilla ylipainoa tai obesiteettia (n=71)	Matalampi maksimaalinen hapenottokyky liittyi matalampaan suhteelliseen osuuteen <i>Bacteroides</i> -suvun lajeja ja korkeampaan suhteelliseen osuuteen <i>Eubacterium rectale-Clostridium coccoides</i> -bakteereita	Ei merkittävää eroa hiilihydraattien, proteiinien, rasvan, kuidun tai energian saannissa

## Pitkittäistutkimukset

Tutkimus	Aineisto	Liikunta-interventio	Päätulokset	Ruokavalio
Paulsen (88)	12 rintasyövän primaarihoidon läpikäyneitä naisia	Annettu kirjallista tietoa liikunnan hyödyistä. Liikuntatesti alussa ja 3 kk jälkeen	Aerobisen kunnon kohoamisen ja suoliston mikrobiston beta-diversiteetin lisääntymisessä havaittiin yhteys 3 kk kohdalla	Tutkittavat raportoivat ruokavaliosta, jossa ei muutosta hiilihydraattien ja kuitujen saannissa
Allen (84)	Yhteensä 32 aiemmin inaktiivisia aikuisia, joista 18 oli normaalipainoisia (BMI alle 25 kg/m <sup>2</sup> ) ja 14 oli lihavaa (BMI yli 30 kg/m <sup>2</sup> )	6 vko:n progressiivisesti kasvava aerobinen liikuntainterventio (kohtalainen-kova), jonka jälkeen 6 vko:n jakso ilman liikuntaharjoittelua	Mikrobiston muutos riippui BMI:stä. <i>Faecalibacterium</i> lisääntyi hoikilla ja väheni obeeseilla kun taas <i>Bacteroidetes</i> -lajit lisääntyivät obeeseilla ja vähenivät hoikilla. Muutokset tapahtuivat päivastaiseen suuntaan kun siirryttiin takaisin inaktiiviseen elämään	Ruokavalion pysyvyyttä valvottiin 7 vrk:n ruokavaliopäiväkirjalla ja 3 vrk:n kontrollipäiväkirjalla ennen jokaista ulostenäytettä
Cronin (85)	90 lähinnä ylipainoisia tai lihavaa aikuisia, satunnaistettu 3 ryhmään: 1. Vain liikunta, 2. Liikunta + hera-proteiini, 3. Vain hera-proteiini	8 vk:n ajan asteittain kasvavasa aerobisesta liikuntaa 18-32 min (kohtalainen) sekä lihaskuntoharjoittelua 3x/vk	Bakteerien monimuotoisuuden lisääntymistä liikunta ja liikunta+hera-proteiiniryhmissä, mutta ei pelkkää heraproteiinia saavilla. Vain vähäistä muutosta mikrobikoostumuksessa	Ruokavalion pysyvyyden tarkkailu tutkittavien toimesta
Munukka (86)	17 inaktiivista ja ylipainoisia (BMI >27,5 kg/m <sup>2</sup> ) naista	6 vko:n ajan kasvava ohjattu polkupyöräergometria-interventio (matala-kohtalainen) 3x/vk	Lisääntynyt suhteellinen osuus Akkermansia-määrissä ja vähentynyt osuus Proteobacteria-määrissä. Vain puolella tutkittavissa mikrobistossa tapahtui vaste liikunnalle. Liikuntaharjoitukset vähensivät fruktoosin ja aminohappojen metaboliaan osallistuvien geenien osuutta	14 tutkittavien ruokavalion pysyvyyttä valvottiin 3 päivää kestäneellä selvityksellä. Vähäistä energiamäärän lisääntymistä (täkkelys)

Taulukoiden lähde mukaillen (83).

## 7.2 Mekanismit

Selvää syytä liikunnan aiheuttamille suoliston mikrobiston muutoksille ei ole vielä löydetty. Muutamia mahdollisia mekanismeja on kuitenkin esitetty. Säännöllisellä liikunnalla on osoitettu olevan anti-inflammatorinen vaikutus, joka ilmenee tulehdusta välittäviä sytokiinin vähenemisenä ja anti-

inflammatoristen sytokiinien lisääntymisenä (89). On kuitenkin huomioitava, että liikunnan aiheuttama välitön inflammatorinen immuunivaste on päinvastainen säännöllisen liikunnan anti-inflammatorisen vaikutuksen kanssa. Eräässä katsausartikkelissa esitettiin suoliston immunologisen vasteen peilaavan liikunnan aikaansaamaa muutosta systeemisessä immuunivasteessa ja muovaavan samalla suoliston mikrobiston toimintaa ja kirjoa (90). Samassa artikkelissa esitettiin myös liikunnan aikaansaamat verenkierrölliset muutokset suoliston alueella yhtenä mahdollisena tekijänä suoliston mikrobiston muutoksille.

Liikunnan tiedetään aiheuttavan muutoksia stressivasteita säätelevääniin hypotalamus-aivolisäke-lisämunuais-akseliin (HPA) (91). HPA-akseli aktivoituu vasteena psyykkiselle tai fyysiselle stressille, jolloin lisämunuaisen kortisolin erityks kiihtyy. Kortisoli taas vaikuttaa laajasti energia-aineenvaihduntaan ja immuniteettiin. Vasteena stressille myös lisämunuaisen katekoliamiinien eli noradrenaliinin ja adrenaliinin erityks lisääntyy. On esitetty, että vuorovaikutus katekoliamiinien ja muiden stressinvälittäjien kanssa saattaa vaikuttaa suolistobakteerien monimuotoisuuteen (92). Suoliston mikrobiston roolia HPA-akselin toiminnassa ei vielä tunneta täysin, mutta aihe on aktiivisen tutkimuksen kohde (93).

Urheilijoiden suoliston mikrobistosta tulevat terveyshyödyt todennäköisesti välittyvät useiden eri mekanismien kautta. Näitä voi edellä mainittujen lisäksi olla aminohappojen ja antibioottien biosynteesi, hiilihydraattimetabolian sekä SCFA:n lisääntynyt tuotanto.



## 8. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin hoito

### 8.1 Yleistä

NAFLD:n hoidossa laihduttaminen, elintapamuutokset ja liikunnan lisääminen ovat tärkeimmät hoitomuodot (9). Painon pudotuksen määrä korreloi maksan rasvapitoisuuden pienenemisen kanssa. Erityisesti rasvapitoisuus pienenee, kun painonpudotus on vähintään 10 %. Vähintään 10 % painonpudotuksen yhteydessä on todettu insuliiniresistenssin vähenemisen lisäksi tulehdusmuutosten sekä fibroosin lievittymistä. (94)(95)

### 8.2 Ruokavalio

NAFLD:n kannalta ei olla onnistuttu löytämään parasta mahdollista ruokavaliota, josta olisi muihin nähden erityistä hyötyä (9). Välimeren ruokavalio vähentää maksan rasvoittumista ja lisää insuliiniherkkyyttä enemmän kuin vähärasvainen tai paljon hiilihydraatteja sisältävä ruokavalio (96). Rasvamaksapotilaita suositellaan kuitenkin välttämään liiallista kovan rasvan saantia ja runsaasti fruktoosia sisältäviä ruokia ja juomia sekä vähentämään ravinnon kokonaisenergiämäärää. (9)

Runsaasti lisättyä sokeria sisältävän ruokavalion välttäminen vaikuttaisi vähentävän kliinisten tutkimusten mukaan maksan rasvoittumista. Eräässä tutkimuksessa biopsiavarmennetun NAFLD-diagnoosin saaneiden teini-ikäisten poikien steatoosin astetta arvioitiin ennen ja jälkeen kahdeksan viikon interventiojakson, jonka aikana tutkittavat noudattivat vähäsokerista ruokavaliota. Tutkittavilla steatoosin aste laski huomattavasti kontrolleihin verrattuna. Samoin tutkittavien ALAT-arvot laskivat. (97)

Useissa tutkimuksissa on todettu ruokavalion vaikuttavan suoliston mikrobiston koostumukseen (98)(99). Eläinmalleissa on havaittu korkeaenergisestä ruokavalion aiheuttavan palautuvan muutoksen suoliston mikrobistossa. Runsaasti rasvaa ja sokeria sisältävää ravintoa saavien hiirten suolistossa

havaittiin lihavuuteen liitettyjen *Firmicutes*-pääjaksoon kuuluvien bakteerien selvästi lisääntyvän suhteessa vähäsokerista ravintoa saaviin hiiriin. Samoin *Verrucomicrobiota*-bakteerien määrä lisääntyi, kun taas *Bacteroidetes*-bakteerien määrä väheni. (99) Runsasrasvaisen ruokavalion on todettu myös lisäävän hiirten suolistossa *Lactobacillus*-luokkaan kuuluvien bakteerien määrää samanaikaisesti maksan steatoosin kehittymisen kanssa. (98)

Runsasenergisien ruokavalion voidaan siis olettaa aiheuttavan maksan rasvoittumista osittain suoliston mikrobiston muutosten kautta. Koska eläinmallien perusteella muutokset suoliston mikrobistossa ovat palautuvia, myös terveellisen ruokavalion NAFLD:n kannalta edullisten vaikutusten voidaan ajatella osaltaan välittyvän suoliston mikrobiston kautta.

### 8.3 Liikunta

Aerobinen liikunta lisää insuliinin herkkyttä tyypin 2 diabeetikoilla. Glukoosin oton herkkyys ja reaktiivisuus lisääntyvät perifeerisissä kudoksissa ja luultavasti lihaksissa (100). Sekä voimaharjoittelu että aerobinen harjoittelu vähentävät maksan rasvoittumista NAFLD-potilailla sekä parantavat glukoositasapainoa. Yhdysvaltalaisessa 19 NAFLD-potilasta käsittäneessä voimaharjoittelututkimuksessa voimaharjoittelua tehneiden tutkittavien maksan rasvapitoisuus väheni noin 13 % ja insuliiniherkkyys lisääntyi noin 12 % painonpudotuksesta riippumatta. (16) Ei tiedetä, minkälainen liikunta olisi NAFLD-potilaille parasta, mutta elämäntapamuutoksen vuoksi kaikenlainen liikunta ja arjen aktiivisuus on suositeltavaa. Kaikenlaista liikuntaa voidaan siis suositella jo yksinään ilman painon pudotusta insuliiniherkyyden ja maksan rasvapitoisuuden takia, mutta samanaikainen painonpudotus tehostaa liikunnan maksalle edullisia vaikutuksia. (9)

Vielä ei tunneta aukottomasti mekanismeja, joilla liikunta ehkäisee maksan rasvoittumista. Reaktiivisten happiradikaalien aiheuttama oksidatiivinen stressi ja inflammaatio todennäköisesti osallistuvat NAFLD:n patogeneesiin ja liikunnan on arveltu vähentävän happiradikaalien tuotantoa ja sitä kautta oksidatiivista stressiä. (101) Eräässä tutkimuksessa mitattiin PPAR-gamma-pitoisuuksia lihavilla hiiriltä, jotka saivat samanaikaisesti korkeaenergistä ravintoa ja suorittivat 12 viikon ajan

liikuntaharjoittelua uimalla. Liikuntaa harrastavilla hiirillä lipidimetabolian häiriöt ja insuliiniresistenssi paranivat huomattavasti verrattuna pelkkää korkeaenergistä ravintoa saaviin hiiriin. PPAR-gamma-pitoisuudet maksassa olivat liikuntaa harrastavilla lihavilla hiirillä selvästi kohonneet verrattuna verrokkeihin. Tulosten perusteella vaikuttaisi siltä, että osa liikunnan suotuisista vaikutuksista maksaan välittyy lisääntyneen PPAR-gamma-ekspression ja lisääntyneen rasvahappojen beta-oksidaation kautta. (102) Liikunnan aikaansaamat suoliston mikrobiston muutokset vaikuttavat olevan eräs maksan rasvoittumista ehkäisevien vaikutusten välittäjä.

## 8.4 Lääkehoito

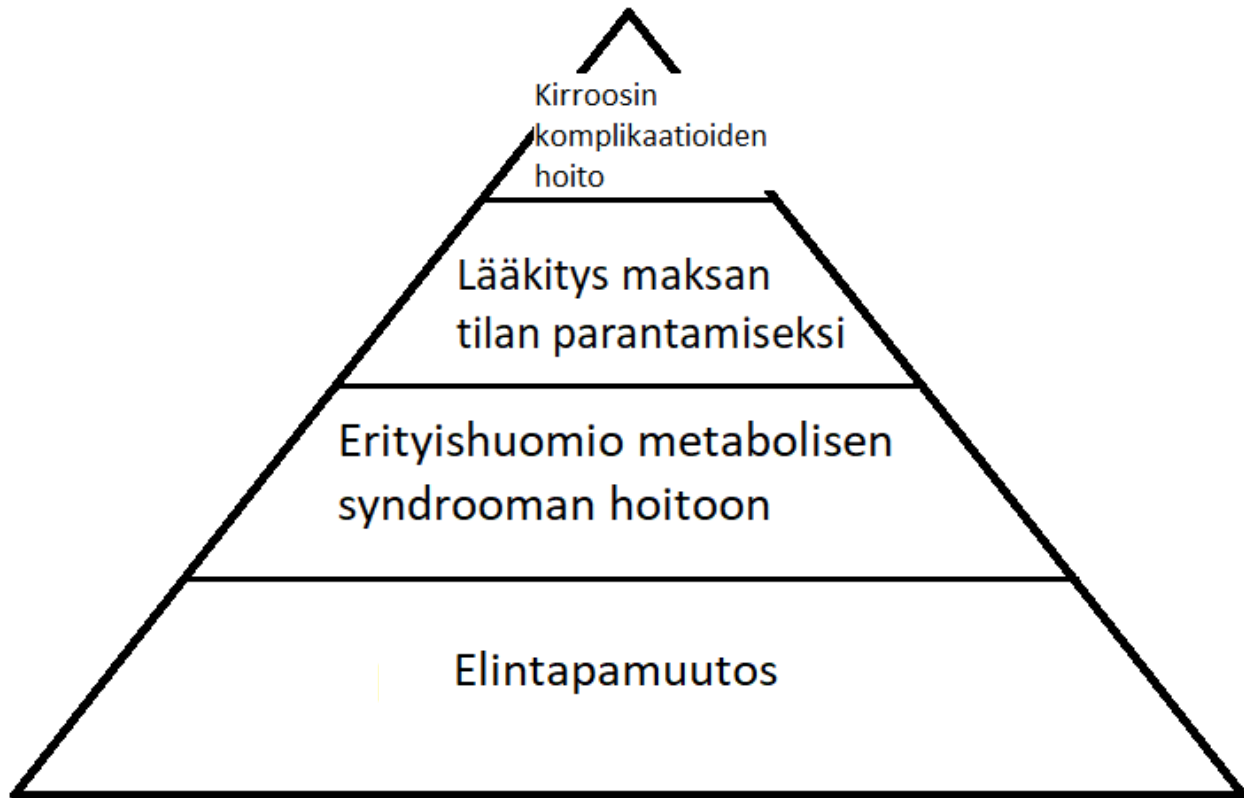
Ensisijaisesti NAFLD:n hoitoon tarkoitettuja lääkehoitoja ei toistaiseksi ole. Diabeteksen hoidossa käytetyillä painoa vähentävillä diabeteslääkkeillä on todettu olevan edullisia vaikutuksia joidenkin potilaiden maksan histologiaan. Sekä insuliiniherkistäjä pioglitatsonin (103) että antioksidanttina toimivalla E-vitamiinin (d-alfa-tokoferoli) on todettu myös pienentävän maksaentsyymipitoisuuksia NASH-potilailla. Vaikutukset tulevat ilmi myös ei-diabeetikoilla. (104) Niiden turvallisuudesta ja tehosta on vielä vähäisesti näyttöä, joten niiden käyttö ei ole rutiininomaista. Pioglitatsonin käytöstä voi aiheutua nesteretentiota ja se voi aiheuttaa sydämen vajaatoimintaa. Tästä syystä sydämen vajaatoiminnan mahdollisuus on suljettava ensin pois. Lisäksi lääke nostaa painoa.

Myös glukagonin kaltainen peptidi-1 (glucagon-like-peptide 1, GLP1) -analogeilla on maksan rasvoittumista vähentävä vaikutus. Ne lisäävät insuliinin eritystä glukosiriippuvaisesti ja vähentävät glukagonin eritystä. GLP1-analogeihin kuuluvan semaglutidin on osoitettu lievittävän merkittävästi steatohepatiittia NASH-potilailla, joskaan fibroosin asteeseen ei havaittu tilastollisesti merkitsevää vaikutusta (105). Niin ikään painoa vähentävät diabeteslääkkeet, natriumin- ja glukosinkuljettajaproteiini 2:n (sodium-glucose-transporter 2, SGLT2) -estäjät, saattavat tulevaisuudessa olla NAFLD:n hoidossa käytettäviä lääkkeitä. Ne lisäävät glukosin eritystä virtsaan, jolloin glukosin- ja insuliinipitoisuus veressä laskee, ja insuliiniresistenssi pienenee. Niiden on myös havaittu pienentävän maksan rasvapitoisuutta hieman, mutta näyttöä ei ole vielä runsaasti. Diabeteksen hoidossa SGLT2-estäjät suojaavat myös sydän- ja verisuonitaudeilta, erityisesti sydämen

vajaatoiminnalta, ja kuormittavat munuaisia vähemmän verrattuna useisiin muihin lääkkeisiin. (103)(104) GLP1-analogeihin ja SGLT2-estäjiin liittyvien tutkimusten ohella myös muita NAFLD:n lääkehoitoon keskittyviä tutkimuksia on meneillään runsaasti.

Joillakin sairaalloisen lihavilla (BMI yli 40 kg/m<sup>2</sup>) tai potilailla, joilla on korkean BMI:n lisäksi (Suomessa BMI 30–35 kg/m<sup>2</sup>) vakava liitännäissairaus (esim. tyypin 2 diabetes), lihavuusleikkaus on hyvä vaihtoehto (106). Myös joitain laihdutuslääkkeitä voidaan käyttää osana hoitoa. Orlistaatti estää lipaasin vaikutusta ohutsuolessa, jolloin rasvojen pilkkoutuminen heikkenee ja rasvojen imeytyminen on vähäisempää. Sitä voidaan käyttää elämäntapamuutoksen rinnalla potilailla, joiden BMI on yli 30 kg/m<sup>2</sup> eikä painon pudottaminen ole onnistunut pelkän elämäntapamuutoksen avulla. Vaikutus NAFLD:en välittyy painon pudotuksen kautta. (107)

NAFLD:n ja muuntuneen suoliston mikrobiston välisen yhteyden vuoksi voisi mikrobiston muokkaaminen olla mahdollinen NAFLD:n hoidon kohde. On osoitettu, että allogeeniset ulosteensiirrot vegaanista ruokavaliota noudattavilta hoikilta henkilöiltä lihaville biopsiavarmennetuille NAFLD-potilaille ovat lievittäneet steatohepatiittia ja muuntaneet NAFLD-potilaiden suoliston mikrobiston koostumusta. (108) Tutkimusta suoliston mikrobiston muokkaamisesta ja ulosteensiirroista tarvitaan kuitenkin lisää.



Kuva 4. NAFLD:n hoito. Kuvan lähde mukaillen (109).

Elintapamuutos on NAFLD:n tärkein hoito. Sen lisäksi on tärkeä kiinnittää erityistä huomiota metabolisen syndrooman hoitoon ja lisäksi suuren riskin potilaille on harkittava elintapamuutoksen rinnalle lääkitystä, jolla vaikutetaan rasvamaksan tilaan. Jos maksasairaus kuitenkin etenee kirroosiin asti, on hoidettava kirroosin komplikaatioita.

## 9. Ei-alkoholiperäisen rasvamaksataudin ennuste

NAFLD lisää sekä sairastuvuutta että kuolleisuutta. Vaikka NAFLD on maksasairaus ja aiheuttaa maksakuolemia kirroosista, maksan vajaatoiminnasta ja maksasolusyövästä johtuen, suurin osa kuolemista liittyy kuitenkin sydän- ja verisuonitauteihin.

Suomalaisessa väestötutkimuksessa seurattiin noin 11 000 suomalaista FINRISK- ja Health 2000-aineistojen avulla. Väestötutkimuksessa tutkittavat eivät ole yhtä valikoituja kuin tutkimuksissa, joissa seurataan esimerkiksi tarkkaan valittuja tai biopsialla varmennettuja NAFLD-potilaita. Keskimääräisen 12,6 vuoden seuranta-aikana havaittiin, että maksaan liittyvien päätapahtumien (maksakirroosi, maksan vaikea vajaatoiminta, HCC) riski oli pieni. Kuitenkin sydän- ja verisuonitautien riski sekä riski sairastua syöpään oli muuhun väestöön nähden huomattavasti suurempi. Tärkeimpänä syynä tähän voidaan pitää metabolista oireyhtymää. NAFLD-potilaiden kokonaiskuolleisuus on lisääntynyt lähes 60 %, johtuen erityisesti sydän- ja verisuonitaukeista sekä maksasairauksista (3)(10).

TAULUKKO 4. NAFLD-potilaiden yleisimmät kuolinsyyt. Ruotsalaisessa tutkimuksessa seurattiin 229:ää NAFLD-potilasta sekä terveitä verrokkeja. Seuranta-aika oli keskimäärin 26,4 vuotta. Tänä aikana NAFLD:ta sairastavista tutkittavista 96 (42 %) kuoli. Taulukossa on esitetty yleisimmät kuolinsyyt.

<b>Kuolinsyy</b>	<b>Potilaiden määrä</b>	<b>Potilaiden määrä prosentteina</b>
Sydän- ja verisuonitaudit	41	43 %
Muut kuin ruoansulatuskanavan maligniteetit	18	19 %
Hepatosellulaarinen karsinoma	5	5 %
Infektiot	5	5 %
Ruoansulatuskanavan maligniteetit	4	4 %
Maksakirroosi	4	4 %

Taulukon lähde: (36)

Suurimmalla osalla NAFLD on siis melko hyvälaatuinen sairaus maksan päätapahtumien osalta. Poikkeuksena on fibroosin nopea eteneminen 20 %:lla fibroosipotilaista. Etenevää fibroosia voi olla sekä NAFL- että NASH-potilailla. Fibroosin kehittymisen riskitekijät tunnetaan puutteellisesti. (110) Taudin etenemiseen voi kuitenkin usein vaikuttaa elintapamuutosten (laihduuttaminen, ruokavalion muuttaminen, liikunnan lisääminen) avulla niin, että taudin eteneminen hidastuu, pysähtyy tai taudista voi jopa parantua (1).

Maksakomplikaatioiden riski on NASH-potilailla huomattavasti korkeampi kuin NAFL-potilailla. NASH-potilaiden maksakuolleisuus on lisääntynyt 5–6 kertaiseksi. HCC on yleisimmin kirroosin pohjalta

syntyvä komplikaatio, mutta se voi ilmetä myös ei-kirroottisessa NAFLD-maksassa. HCC:n riski on siis kohonnut kaikilla NASH-potilailla fibroosista riippumatta. Riski on kuitenkin huomattavasti suurempi niillä, joilla maksa on fibrotisoitunut. Fibroosi on suurin kuolleisuuteen vaikuttava tekijä. (111)

NASH on Yhdysvalloissa yleisin syy maksansiirrolle ja se yleistyy koko ajan. Tästä syystä on tärkeää tunnistaa NASH-riskissä olevat potilaat, jotta vakavilta päätapahtumilta ja maksansiirroiltakin voitaisiin välttyä. (112)



## 10. Pohdinta

NAFLD on yleinen, elintapoihin vahvasti kytkeytyvä tauti. Taudin ehkäiseminen ja uusien hoitomenetelmien kehittäminen edellyttää kokonaisvaltaista ymmärrystä metabolisen oireyhtymän eri komponenteista, ja tämän ymmärryksen kartuttamiseksi tarvitaan vielä lisää tutkimusta. Suoliston mikrobiston tutkiminen on antanut uusia viitteitä mahdollisista NAFLD:n patogeneesiin osallistuvista tekijöistä. Huolimatta ihmisen suolistossa elävien mikrobien valtavasta määrästä niiden vaikutuksista terveyteen ja sairauksien kehittymiseen tiedetään kuitenkin toistaiseksi vähän.

Tällä hetkellä tiedetään, että suoliston muuttuneella mikrobistolla on yhteys NAFLD:en. Erityisesti on tutkittu sen yhteyttä NASH:iin. (52) Yhteys metabolisiin häiriöihin on havaittu, mutta havaintoja ei ole toistaiseksi saatu koskemaan erityisesti NAFLD:ta. Koska lihavuutta aiheuttavat muutokset liittyvät usein myös rasvamaksatautiin, syy-seuraus-suhteiden määrittäminen on haastavaa. Muuntunut suoliston mikrobisto rasvamaksatautipotilailla tuottaa esimerkiksi enemmän lipopolysakkarideja, jotka ovat pro-inflammatorisia endotoksiineja, mutta toisaalta myös enemmän energia-aineenvaihdunnan säätelyyn osallistuvia lyhytketjuisia rasvahappoja, joilla tiedetään olevan myös terveyden kannalta edullisia vaikutuksia.

Suolistobakteerien tuottamien aineenvaihduntatuotteiden merkitys tunnetaan vielä puutteellisesti. Edellä mainittujen lyhytketjuisten rasvahappojen roolia ihmisen energia-aineenvaihdunnassa ei vielä ole tutkittu riittävästi, ja eläinmalleista vedettävät johtopäätökset eivät välttämättä ole suoraan yleistettävissä ihmisen suoliston mikrobiston toimintaan tai SCFA:n vaikutuksiin rasvamaksasairauden kehittymiseen ihmisillä. Etanolin vaikutukset maksaan taas tunnetaan hyvin, mutta suolistomikrobien lisääntyneen etanolintuotannon merkitys NAFLD:n tai NASH:n kehittymiseen on toistaiseksi epäselvä. Tämänhetkisen tiedon valossa voi olla joissain tapauksissa vaikeaa määrittää mitkä suoliston mikrobiston muutokset ovat seurausta NAFLD:stä ja mitkä taas voisivat olla osallistumassa NAFLD:n kehittymiseen.

Runsaasti liikkuvilla suoliston mikrobiston koostumus vaikuttaisi poikkeavan verrokkiväestöstä. Liikunnan suorien suoliston mikrobistoon kohdistuvien vaikutusten tutkiminen on haastavaa, koska urheilijoilla ja paljon liikkuvilla on usein muutoinkin verrokkiväestöstä poikkeavat elintavat. Esimerkiksi ruokavalio vaikuttaa suoliston mikrobistoon. Edellä käsiteltyjen tutkimusten perusteella liikunnalla näyttää silti olevan itsenäisiä, ruokavaliosta tai muista tekijöistä riippumattomia vaikutusmekanismeja suoliston mikrobistoon. Tarkkoja mekanismeja ilmiön taustalla ei vielä tunneta. Todennäköisesti mikrobiston muokkautumiseen osallistuvat ainakin immuunivaste, sytokiinit sekä neuraaliset ja endokriiniset tekijät.

Tutkimuksissa havaitut muutokset runsaasti liikkuvien mikrobistossa eivät ole merkitykseltään täysin selviä. Ei tiedetä, miksi liikunta vaikuttaisi nostavan *Firmicutes/Bacteroidetes* -suhdetta, kun toisaalta tämän saman suhteen on havaittu olevan kohonnut myös lihavilla. Liikunta ilmeisesti kuitenkin lisää suoliston mikrobiston monimuotoisuutta, jolla vaikuttaa olevan yhteys alhaisempaan metabolisen oireyhtymän esiintyvyyteen (66).

Haasteena on lisäksi se, että usein tutkitaan lähinnä bakteerien pääjaksoja huomioimatta tarkemmin alempien taksonomisten tasojen, kuten yksittäisten bakteerilajien suojaavia tai haitallisia vaikutuksia. Lisäksi suuri osa suolistomikrobitutkimuksista tehdään ulostenäytteistä, jossa paksusuolen loppuosan bakteerit ovat ylliedustettuna. Tämän vuoksi ulostenäytteistä ei välttämättä saada todenmukaista kuvaa koko mikrobistosta. (50) Mikrobiston tutkimusmenetelmät ovat kehittyneet viime vuosina huomattavasti, mutta siitä huolimatta analyysien tulokset ovat menetelmästä riippuvaisia, joten se heikentää tulosten toistettavuutta, luotettavuutta ja vertailukelpoisuutta. Tutkimustuloksia, joita on saatu esimerkiksi sekvensoimalla, voidaan analysoida monella tavalla ja vielä ei osata sanoa, millainen analysointitapa on paras.

Vaikka suoliston mikrobiston tutkimusmetodeihin ja tutkimustulosten tulkintaan liittyy haasteita, löydöksillä voi olla merkitystä uusien hoitomenetelmien kehittämisessä. Eläinmallien suoliston mikrobiston perusteella on saatu alustavia viitteitä NAFLD:n lääkehoidon kohteista. Esimerkiksi

STING-proteiiniin kohdistuvat lääkeaineet, samoin kuin TLR4-inhibiittorit, ovat mahdollisia kohteita NAFLD:n hoitoon liittyvälle tutkimukselle. (61)(60)

Mahdollisen lääkehoidon kehittymisestä huolimatta vaikuttaa siltä, että liikunta tulee pysymään keskeisenä NAFLD:n ennaltaehkäisyssä ja hoidossa. Aiemmin on jo todettu, että liikunnalla on maksan rasvoittumista ehkäiseviä vaikutuksia, ja nämä mekanismit ovat itsenäisiä painon muutoksen suhteen.

NAFLD on tavallinen sairaus. Liikunnan hyödyt sen hoidossa ovat hyvin tiedossa. Liikunnalla on positiivisia vaikutusta myös suoliston mikrobistoon, joka osaltaan vaikuttaisi välittävän liikunnan hyötyjä NAFLD-potilailla. Lisää tarpeellista tutkimusta aiheesta tullaan toivottavasti näkemään lähitulevaisuudessa.

## 11. Lähteet

1. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018 January 01;67(1):328-57.
2. Eslam M, Sanyal AJ, George J, International Consensus Panel. MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2020 May 01;158(7):1999,2014.e1.
3. Bhatia LS, Curzen NP, Calder PC, Byrne CD. Non-alcoholic fatty liver disease: a new and important cardiovascular risk factor? *Eur Heart J*. 2012 May 01;33(10):1190-200.
4. 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 July 01;64(1):73-84.
5. 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 August 01;34(3):274-85.
6. Chen CH, Huang MH, Yang JC, Nien CK, Yang CC, Yeh YH, et al. Prevalence and etiology of elevated serum alanine aminotransferase level in an adult population in Taiwan. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007 September 01;22(9):1482-9.
7. Hyysalo J, Mannisto VT, Zhou Y, Arola J, Karja V, Leivonen M, et al. A population-based study on the prevalence of NASH using scores validated against liver histology. *J Hepatol*. 2014 April 01;60(4):839-46.
8. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol*. 2013 March 01;58(3):593-608.
9. European Association for the Study of the Liver, (EASL), European Association for the Study of Diabetes, (EASD), European Association for the Study of Obesity, (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Obes Facts*. 2016;9(2):65-90.
10. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*. 2011 December 01;43(8):617-49.

11. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology*. 2001 April 01;120(5):1183-92.
12. Dai W, Ye L, Liu A, Wen SW, Deng J, Wu X, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017 September 01;96(39):e8179.
13. Feng RN, Du SS, Wang C, Li YC, Liu LY, Guo FC, et al. Lean-non-alcoholic fatty liver disease increases risk for metabolic disorders in a normal weight Chinese population. *World J Gastroenterol*. 2014 December 21;20(47):17932-40.
14. Wang AY, Dhaliwal J, Mouzaki M. Lean non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Nutr*. 2019 June 01;38(3):975-81.
15. Mahady SE, George J. Exercise and diet in the management of nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016 August 01;65(8):1172-82.
16. Hallsworth K, Fattakhova G, Hollingsworth KG, Thoma C, Moore S, Taylor R, et al. Resistance exercise reduces liver fat and its mediators in non-alcoholic fatty liver disease independent of weight loss. *Gut*. 2011 September 01;60(9):1278-83.
17. Bo S, Musso G, Beccuti G, Fadda M, Fedele D, Gambino R, et al. Consuming more of daily caloric intake at dinner predisposes to obesity. A 6-year population-based prospective cohort study. *PLoS One*. 2014 September 24;9(9):e108467.
18. Westerbacka J, Lammi K, Hakkinen AM, Rissanen A, Salminen I, Aro A, et al. Dietary fat content modifies liver fat in overweight nondiabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 May 01;90(5):2804-9.
19. Luukkonen PK, Sadevirta S, Zhou Y, Kayser B, Ali A, Ahonen L, et al. Saturated Fat Is More Metabolically Harmful for the Human Liver Than Unsaturated Fat or Simple Sugars. *Diabetes Care*. 2018 August 01;41(8):1732-9.
20. Abdelmalek MF, Suzuki A, Guy C, Unalp-Arida A, Colvin R, Johnson RJ, et al. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010 June 01;51(6):1961-71.
21. Speliotes EK, Yerges-Armstrong LM, Wu J, Hernaez R, Kim LJ, Palmer CD, et al. Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits. *PLoS Genet*. 2011 March 01;7(3):e1001324.

22. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet.* 2008 December 01;40(12):1461-5.
23. Liu YL, Reeves HL, Burt AD, Tiniakos D, McPherson S, Leathart JB, et al. TM6SF2 rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nat Commun.* 2014 June 30;5:4309.
24. Su W, Mao Z, Liu Y, Zhang X, Zhang W, Gustafsson JA, et al. Role of HSD17B13 in the liver physiology and pathophysiology. *Mol Cell Endocrinol.* 2019 June 01;489:119-25.
25. Speliotes EK, Yerges-Armstrong LM, Wu J, Hernaez R, Kim LJ, Palmer CD, et al. Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits. *PLoS Genet.* 2011 March 01;7(3):e1001324.
26. Mancina RM, Dongiovanni P, Petta S, Pingitore P, Meroni M, Rametta R, et al. The MBOAT7-TMC4 Variant rs641738 Increases Risk of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Individuals of European Descent. *Gastroenterology.* 2016 May 01;150(5):1219,1230.e6.
27. Thangapandi VR, Knittelfelder O, Brosch M, Patsenker E, Vvedenskaya O, Buch S, et al. Loss of hepatic Mboat7 leads to liver fibrosis. *Gut.* 2021 May 01;70(5):940-50.
28. Aberg F, Helenius-Hietala J, Puukka P, Farkkila M, Jula A. Interaction between alcohol consumption and metabolic syndrome in predicting severe liver disease in the general population. *Hepatology.* 2018 June 01;67(6):2141-9.
29. Stender S, Kozlitina J, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, Hobbs HH, Cohen JC. Adiposity amplifies the genetic risk of fatty liver disease conferred by multiple loci. *Nat Genet.* 2017 June 01;49(6):842-7.
30. Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, et al. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005 February 01;288(2):462.
31. Caussy C, Alquraish MH, Nguyen P, Hernandez C, Cepin S, Fortney LE, et al. Optimal threshold of controlled attenuation parameter with MRI-PDFF as the gold standard for the detection of hepatic steatosis. *Hepatology.* 2018 April 01;67(4):1348-59.
32. Piekarski J, Goldberg HI, Royal SA, Axel L, Moss AA. Difference between liver and spleen CT numbers in the normal adult: its usefulness in predicting the presence of diffuse liver disease. *Radiology.* 1980 December 01;137(3):727-9.

33. Fishbein M, Castro F, Cheruku S, Jain S, Webb B, Gleason T, et al. Hepatic MRI for fat quantitation: its relationship to fat morphology, diagnosis, and ultrasound. *J Clin Gastroenterol*. 2005 August 01;39(7):619-25.
34. Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, Croce LS, Brandi G, Sasso F, et al. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med*. 2000 January 18;132(2):112-7.
35. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, et al. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2005 June 01;128(7):1898-906.
36. Ekstedt M, Hagstrom H, Nasr P, Fredrikson M, Stal P, Kechagias S, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology*. 2015 May 01;61(5):1547-54.
37. Guha IN, Parkes J, Roderick P, Chattopadhyay D, Cross R, Harris S, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology*. 2008 February 01;47(2):455-60.
38. Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, Castera L, Le Bail B, Adhoute X, et al. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut*. 2006 March 01;55(3):403-8.
39. Portillo-Sanchez P, Bril F, Maximos M, Lomonaco R, Biernacki D, Orsak B, et al. High Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Normal Plasma Aminotransferase Levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 June 01;100(6):2231-8.
40. Alkhoury N, Dixon LJ, Feldstein AE. Lipotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease: not all lipids are created equal. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2009 August 01;3(4):445-51.
41. Lomonaco R, Ortiz-Lopez C, Orsak B, Webb A, Hardies J, Darland C, et al. Effect of adipose tissue insulin resistance on metabolic parameters and liver histology in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2012 May 01;55(5):1389-97.
42. Lambert JE, Ramos-Roman MA, Browning JD, Parks EJ. Increased de novo lipogenesis is a distinct characteristic of individuals with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2014 March 01;146(3):726-35.
43. 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 May 01;115(5):1343-51.
44. Yang S, Lin H, Diehl AM. Fatty liver vulnerability to endotoxin-induced damage despite NF-kappaB induction and inhibited caspase 3 activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2001 August 01;281(2):382.

45. Rivera CA, Adegboyega P, van Rooijen N, Tagalicud A, Allman M, Wallace M. Toll-like receptor-4 signaling and Kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 2007 October 01;47(4):571-9.
46. Washington K, Wright K, Shyr Y, Hunter EB, Olson S, Raiford DS. Hepatic stellate cell activation in nonalcoholic steatohepatitis and fatty liver. *Hum Pathol.* 2000 July 01;31(7):822-8.
47. Kleiner DE, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: pathologic patterns and biopsy evaluation in clinical research. *Semin Liver Dis.* 2012 February 01;32(1):3-13.
48. Margini C, Dufour JF. The story of HCC in NAFLD: from epidemiology, across pathogenesis, to prevention and treatment. *Liver Int.* 2016 March 01;36(3):317-24.
49. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science.* 2005 June 10;308(5728):1635-8.
50. Flint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012 September 04;9(10):577-89.
51. Houttu V, Boulund U, Grefhorst A, Soeters MR, Pinto-Sietsma SJ, Nieuwdorp M, et al. The role of the gut microbiome and exercise in non-alcoholic fatty liver disease. *Therap Adv Gastroenterol.* 2020 September 15;13:1756284820941745.
52. Zhu L, Baker RD, Baker SS. Gut microbiome and nonalcoholic fatty liver diseases. *Pediatr Res.* 2015 January 01;77(1-2):245-51.
53. Schwiertz A, Taras D, Schafer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity (Silver Spring).* 2010 January 01;18(1):190-5.
54. Lai ZL, Tseng CH, Ho HJ, Cheung CKY, Lin JY, Chen YJ, et al. Fecal microbiota transplantation confers beneficial metabolic effects of diet and exercise on diet-induced obese mice. *Sci Rep.* 2018 October 23;8(1):15625-y.
55. Frost G, Sleeth ML, Sahuri-Arisoylu M, Lizarbe B, Cerdan S, Brody L, et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun.* 2014 April 29;5:3611.
56. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature.* 2006 December 21;444(7122):1027-31.
57. Tappenden KA, Thomson AB, Wild GE, McBurney MI. Short-chain fatty acid-supplemented total parenteral nutrition enhances functional adaptation to intestinal resection in rats. *Gastroenterology.* 1997 March 01;112(3):792-802.



58. den Besten G, Bleeker A, Gerding A, van Eunen K, Havinga R, van Dijk TH, et al. Short-Chain Fatty Acids Protect Against High-Fat Diet-Induced Obesity via a PPARgamma-Dependent Switch From Lipogenesis to Fat Oxidation. *Diabetes*. 2015 July 01;64(7):2398-408.
59. Harte AL, da Silva NF, Creely SJ, McGee KC, Billyard T, Youssef-Elabd EM, et al. Elevated endotoxin levels in non-alcoholic fatty liver disease. *J Inflamm (Lond)*. 2010 March 30;7:15-.
60. Carpino G, Del Ben M, Pastori D, Carnevale R, Baratta F, Overi D, et al. Increased Liver Localization of Lipopolysaccharides in Human and Experimental NAFLD. *Hepatology*. 2020 August 01;72(2):470-85.
61. Luo X, Li H, Ma L, Zhou J, Guo X, Woo SL, et al. Expression of STING Is Increased in Liver Tissues From Patients With NAFLD and Promotes Macrophage-Mediated Hepatic Inflammation and Fibrosis in Mice. *Gastroenterology*. 2018 December 01;155(6):1971,1984.e4.
62. Munukka E, Pekkala S, Wiklund P, Rasool O, Borra R, Kong L, et al. Gut-adipose tissue axis in hepatic fat accumulation in humans. *J Hepatol*. 2014 July 01;61(1):132-8.
63. Augustyn M, Grys I, Kukla M. Small intestinal bacterial overgrowth and nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Exp Hepatol*. 2019 March 01;5(1):1-10.
64. Raman M, Ahmed I, Gillevet PM, Probert CS, Ratcliffe NM, Smith S, et al. Fecal microbiome and volatile organic compound metabolome in obese humans with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013 July 01;11(7):868-3.
65. Del Chierico F, Nobili V, Vernocchi P, Russo A, De Stefanis C, Gnani D, et al. Gut microbiota profiling of pediatric nonalcoholic fatty liver disease and obese patients unveiled by an integrated meta-omics-based approach. *Hepatology*. 2017 February 01;65(2):451-64.
66. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhoury R, Baker RD, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*. 2013 February 01;57(2):601-9.
67. Mouzaki M, Comelli EM, Arendt BM, Bonengel J, Fung SK, Fischer SE, et al. Intestinal microbiota in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2013 July 01;58(1):120-7.
68. Elshaghabe FM, Bockelmann W, Meske D, de Vrese M, Walte HG, Schrezenmeir J, et al. Ethanol Production by Selected Intestinal Microorganisms and Lactic Acid Bacteria Growing under Different Nutritional Conditions. *Front Microbiol*. 2016 January 29;7:47.
69. Ruuskanen MO, Aberg F, Mannisto V, Havulinna AS, Meric G, Liu Y, et al. Links between gut microbiome composition and fatty liver disease in a large population sample. *Gut Microbes*. 2021 December 01;13(1):1-22.

70. Cope K, Risby T, Diehl AM. Increased gastrointestinal ethanol production in obese mice: implications for fatty liver disease pathogenesis. *Gastroenterology*. 2000 November 01;119(5):1340-7.
71. Nair S, Cope K, Risby TH, Diehl AM. Obesity and female gender increase breath ethanol concentration: potential implications for the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2001 April 01;96(4):1200-4.
72. Dasarathy S, Yang Y, McCullough AJ, Marczewski S, Bennett C, Kalhan SC. Elevated hepatic fatty acid oxidation, high plasma fibroblast growth factor 21, and fasting bile acids in nonalcoholic steatohepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2011 May 01;23(5):382-8.
73. Jiao N, Baker SS, Chapa-Rodriguez A, Liu W, Nugent CA, Tsompana M, et al. Suppressed hepatic bile acid signalling despite elevated production of primary and secondary bile acids in NAFLD. *Gut*. 2018 October 01;67(10):1881-91.
74. Corbin KD, Zeisel SH. Choline metabolism provides novel insights into nonalcoholic fatty liver disease and its progression. *Curr Opin Gastroenterol*. 2012 March 01;28(2):159-65.
75. Tang WH, Wang Z, Levison BS, Koeth RA, Britt EB, Fu X, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2013 April 25;368(17):1575-84.
76. Houttu V, Boulund U, Grefhorst A, Soeters MR, Pinto-Sietsma SJ, Nieuwdorp M, et al. The role of the gut microbiome and exercise in non-alcoholic fatty liver disease. *Therap Adv Gastroenterol*. 2020 September 15;13:1756284820941745.
77. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*. 2008 June 01;57(6):1470-81.
78. Barton W, Penney NC, Cronin O, Garcia-Perez I, Molloy MG, Holmes E, et al. The microbiome of professional athletes differs from that of more sedentary subjects in composition and particularly at the functional metabolic level. *Gut*. 2018 April 01;67(4):625-33.
79. Clarke SF, Murphy EF, O'Sullivan O, Lucey AJ, Humphreys M, Hogan A, et al. Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. *Gut*. 2014 December 01;63(12):1913-20.
80. Bressa C, Bailen-Andrino M, Perez-Santiago J, Gonzalez-Soltero R, Perez M, Montalvo-Lominchar MG, et al. Differences in gut microbiota profile between women with active lifestyle and sedentary women. *PLoS One*. 2017 February 10;12(2):e0171352.

81. Durk RP, Castillo E, Marquez-Magana L, Grosicki GJ, Bolter ND, Lee CM, et al. Gut Microbiota Composition Is Related to Cardiorespiratory Fitness in Healthy Young Adults. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2019 May 01;29(3):249-53.
82. Estaki M, Pither J, Baumeister P, Little JP, Gill SK, Ghosh S, et al. Cardiorespiratory fitness as a predictor of intestinal microbial diversity and distinct metagenomic functions. *Microbiome.* 2016 August 08;4(1):42-7.
83. Mailing LJ, Allen JM, Buford TW, Fields CJ, Woods JA. Exercise and the Gut Microbiome: A Review of the Evidence, Potential Mechanisms, and Implications for Human Health. *Exerc Sport Sci Rev.* 2019 April 01;47(2):75-85.
84. Allen JM, Mailing LJ, Niemi GM, Moore R, Cook MD, White BA, et al. Exercise Alters Gut Microbiota Composition and Function in Lean and Obese Humans. *Med Sci Sports Exerc.* 2018 April 01;50(4):747-57.
85. Cronin O, Barton W, Skuse P, Penney NC, Garcia-Perez I, Murphy EF, et al. A Prospective Metagenomic and Metabolomic Analysis of the Impact of Exercise and/or Whey Protein Supplementation on the Gut Microbiome of Sedentary Adults. *mSystems.* 2018 April 24;3(3):10.1128/mSystems.00044-Jun.
86. Munukka E, Ahtiainen JP, Puigbo P, Jalkanen S, Pahkala K, Keskitalo A, et al. Six-Week Endurance Exercise Alters Gut Metagenome That Is not Reflected in Systemic Metabolism in Over-weight Women. *Front Microbiol.* 2018 October 03;9:2323.
87. Yang Y, Shi Y, Wiklund P, Tan X, Wu N, Zhang X, et al. The Association between Cardiorespiratory Fitness and Gut Microbiota Composition in Premenopausal Women. *Nutrients.* 2017 July 25;9(8):10.3390/nu9080792.
88. Paulsen JA, Ptacek TS, Carter SJ, Liu N, Kumar R, Hyndman L, et al. Gut microbiota composition associated with alterations in cardiorespiratory fitness and psychosocial outcomes among breast cancer survivors. *Support Care Cancer.* 2017 May 01;25(5):1563-70.
89. Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A, Fernando F, Cavallo S, Cardelli P, et al. Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2010 October 01;20(8):608-17.
90. O'Sullivan O, Cronin O, Clarke SF, Murphy EF, Molloy MG, Shanahan F, et al. Exercise and the microbiota. *Gut Microbes.* 2015;6(2):131-6.
91. Droste SK, Gesing A, Ulbricht S, Muller MB, Linthorst AC, Reul JM. Effects of long-term voluntary exercise on the mouse hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrinology.* 2003 July 01;144(7):3012-23.

92. Lyte M, Vulchanova L, Brown DR. Stress at the intestinal surface: catecholamines and mucosa-bacteria interactions. *Cell Tissue Res.* 2011 January 01;343(1):23-32.
93. Clark A, Mach N. Exercise-induced stress behavior, gut-microbiota-brain axis and diet: a systematic review for athletes. *J Int Soc Sports Nutr.* 2016 November 24;13:43,6. eCollection 2016.
94. Lazo M, Solga SF, Horska A, Bonekamp S, Diehl AM, Brancati FL, et al. Effect of a 12-month intensive lifestyle intervention on hepatic steatosis in adults with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2010 October 01;33(10):2156-63.
95. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology.* 2015 August 01;149(2):367-5.
96. Ryan MC, Itsiopoulos C, Thodis T, Ward G, Trost N, Hofferberth S, et al. The Mediterranean diet improves hepatic steatosis and insulin sensitivity in individuals with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2013 July 01;59(1):138-43.
97. Schwimmer JB, Ugalde-Nicalo P, Welsh JA, Angeles JE, Cordero M, Harlow KE, et al. Effect of a Low Free Sugar Diet vs Usual Diet on Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Adolescent Boys: A Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2019 January 22;321(3):256-65.
98. Zeng H, Liu J, Jackson MI, Zhao FQ, Yan L, Combs GF. Fatty liver accompanies an increase in lactobacillus species in the hind gut of C57BL/6 mice fed a high-fat diet. *J Nutr.* 2013 May 01;143(5):627-31.
99. Carmody RN, Gerber GK, Luevano JM, Gatti DM, Somes L, Svenson KL, et al. Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota. *Cell Host Microbe.* 2015 January 14;17(1):72-84.
100. Kirwan JP, Solomon TP, Wojta DM, Staten MA, Holloszy JO. Effects of 7 days of exercise training on insulin sensitivity and responsiveness in type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009 July 01;297(1):151.
101. Farzanegi P, Dana A, Ebrahimipoor Z, Asadi M, Azarbayjani MA. Mechanisms of beneficial effects of exercise training on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): Roles of oxidative stress and inflammation. *Eur J Sport Sci.* 2019 August 01;19(7):994-1003.
102. Zheng F, Cai Y. Concurrent exercise improves insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease by upregulating PPAR-gamma and genes involved in the beta-oxidation of fatty acids in ApoE-KO mice fed a high-fat diet. *Lipids Health Dis.* 2019 January 05;18(1):6-z.
103. Sato K, Goshio M, Yamamoto T, Kobayashi Y, Ishii N, Ohashi T, et al. Vitamin E has a beneficial effect on nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition.* 2015 August 01;31(7-8):923-30.

104. Belfort R, Harrison SA, Brown K, Darland C, Finch J, Hardies J, et al. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2006 November 30;355(22):2297-307.
105. Newsome PN, Buchholtz K, Cusi K, Linder M, Okanoue T, Ratziu V, et al. A Placebo-Controlled Trial of Subcutaneous Semaglutide in Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2021 March 25;384(12):1113-24.
106. Hannah WN, Harrison SA. Effect of Weight Loss, Diet, Exercise, and Bariatric Surgery on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Liver Dis*. 2016 May 01;20(2):339-50.
107. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: From pathophysiology to therapeutics. *Metabolism*. 2019 March 01;92:82-97.
108. Witjes JJ, Smits LP, Pekmez CT, Prodan A, Meijnikman AS, Troelstra MA, et al. Donor Fecal Microbiota Transplantation Alters Gut Microbiota and Metabolites in Obese Individuals With Steatohepatitis. *Hepatol Commun*. 2020 October 07;4(11):1578-90.
109. Dyson JK, Anstee QM, McPherson S. Non-alcoholic fatty liver disease: a practical approach to treatment. *Frontline Gastroenterol*. 2014 October 01;5(4):277-86.
110. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015 April 01;13(4):643-40.
111. Ekstedt M, Hagstrom H, Nasr P, Fredrikson M, Stal P, Kechagias S, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology*. 2015 May 01;61(5):1547-54.
112. Charlton MR, Burns JM, Pedersen RA, Watt KD, Heimbach JK, Dierkhising RA. Frequency and outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology*. 2011 October 01;141(4):1249-53.