

Terapeutické účinky berberínu na fibrózu pečene sú spojené s metabolizmom lipidov a črevnou flórou

Cirhóza pečene je forma fibrózy pečene, ktorá je výsledkom chronickej hepatitídy spôsobenej rôznymi ochoreniami pečene, ako je vírusová hepatitída, alkoholické poškodenie pečene, nealkoholická steatohepatitída, autoimunitné ochorenie pečene a parazitárne ochorenia, ako je schistosomiáza. Fibróza pečene je bežným patologickým základom a prekursorom cirhózy. Zápal a poruchy metabolizmu lipidov sú kľúčovými faktormi pri fibróze pečene. Štúdie zistili, že časti dráhy kyseliny arachidónovej, ako sú jej metabolické enzýmy a biologicky aktívne produkty, sú charakteristickým znakom zápalu a že aberantná regulácia sprostredkovaná receptorom gama aktivovaným peroxizómovým proliferátorom (PPAR γ) spôsobuje poruchy metabolizmu lipidov. Napriek pokračujúcemu výskumu zameranému na vymedzenie mechanizmov fibrózy pečene, ktoré sú základom rôznych chronických ochorení pečene, je ešte potrebné vyvinúť účinnú klinickú liečbu. Berberín (BBR) je izochinolinový alkaloid s viacerými biologickými aktivitami, ako sú protizápalové, antibakteriálne, protirakovinové a antihyperlipidemické aktivity. Mnohé štúdie tiež zistili, že BBR pôsobí prostredníctvom viacerých ciest na zmiernenie fibrózy pečene. Okrem toho absorpciu BBR zvyšuje črevná flóra obsahujúca nitroreduktázu a je posilnená cez presluchy s metabolizmom žlčových kyselín. To zlepšuje orálnu biologickú dostupnosť BBR, čím sa zvyšuje jeho klinická využiteľnosť. Produkciu butyrátu črevnými anaeróbnymi baktériami dramaticky zvyšuje BBR, čím sa zosilňuje butyrátom sprostredkované zmiernenie fibrózy pečene. V tomto prehľade diskutujeme o účinkoch BBR na fibrózu pečene a metabolizmus lipidov, najmä metabolizmus kyseliny arachidónovej, a zdôrazňujeme potenciálne mechanizmy, ktorými BBR zmiernuje fibrózu pečene prostredníctvom dráh súvisiacich s metabolizmom lipidov a črevnou flórou. Dúfame, že tento prehľad poskytne pohľad na liečbu cirhózy pečene založenú na BBR a súvisiaci výskum v tejto oblasti a podporujeme ďalšie štúdie, ktoré zvyšujú schopnosť BBR zlepšiť zdravie pečene.

Úvod

Cirhóza pečene je hlavnou globálnou chorobnou záťažou a vedie k zvýšenej chorobnosti (*de Marco et al., 1999*). Hlavnými príčinami cirhózy pečene sú vírusová hepatitída, alkoholické ochorenia pečene a nealkoholické tukovatenie pečene a niektoré parazitárne ochorenia. (*Pinzani a kol., 2011*; *Tsochatzis a kol., 2014*; *Itaba a kol., 2019*). Fibróza pečene je patologickým znakom a prekursorom cirhózy a závisí od aktivácie hepatických hviezdicových buniek (HSC). (*Tsuchida a Friedman 2017*; *Kiseleva a Brenner 2021*). Nedávno sa zistilo, že rovnováha medzi regeneráciou pečeneového tkaniva a fibrózou a ich vzťah s poruchami pečeneového mikroprostredia zohráva dôležitú úlohu v patológii fibrózy pečene. (*Poisson et al., 2017*; *Faillaci et al., 2018*). Aberantné zápalové procesy v pečeni a primárne metabolické dráhy v hepatocytoch spolu s črevnou flórou formujú pečeneové mikroprostredie, pričom kľúčovú úlohu v tomto smere zohráva metabolizmus lipidov. Cirhóza pečene je teda komplikované, viacfázové, viaccestné ochorenie, ktorého patogenézu treba ešte úplne charakterizovať.

Mechanizmy aktivácie hepatálnych hviezdicových buniek a fibrózy pečene

Fibróza pečene je proces hojenia rán, ktorý je spúšťaný chronickým poškodením pečene. Ústrednou udalosťou fibrogenézy je trans-diferenciácia kľudových HSC na

myofibroblastický fenotyp. (*Friedman 2008 ; Wilson a kol., 2015*). HSC bohaté na vitamín A a ukladajúce lipidy vykazujú zvýšenú proliferatívnu aktivitu a fibrotický potenciál, keď sú aktivované rôznymi typmi pečňových stimulov. (*Iredale 2007 ; Ramachandran et al., 2012*). Tieto aktivované HSC môžu tiež uvoľňovať zápalové signály na udržanie aktivity myofibroblastov a získavať susedné normálne bunky na ďalšiu aktiváciu a ukladanie extracelulárnej matrice (ECM), čo vedie k dysfunkcii metabolizmu pečene a intrahepatálnej rekonštrukcii. (*Tsuchida a Friedman 2017 ; Henderson a kol., 2020 ; Ginès a kol., 2021 ; Kiseleva a Brenner 2021*). Aktivácia HSC je riadená viacerými mechanizmami, ako je Hedgehog signalizácia, signalizácia jadrového faktora kappa B (NF-KB) a aktivita mitogénom aktivovanej proteínkinázy (MAPK). (*Hellerbrand a kol., 1998 ; Choi a kol., 2009 ; S a kol., 2009 ; Kim a kol., 2017*). Abnormálny stres endoplazmatického retikula (ER), oxidačný stres, autofágia a ferroptóza, sprevádzané signálmi spojenými s inflammasómom, sú bežnými znakmi fibrogenézy. (*Koo a kol., 2016 ; Kim a kol., 2017 ; Yang a kol., 2021 ; Yi a kol., 2021 ; Zhang a kol., 2021*). Patogenéza aktivácie HSC a fibrózy pečene však zostáva nejasná.

Rastúci počet dôkazov odhalil, že aktivácia HSC a fibrogenéza sú spojené s všestrannosťou metabolizmu pečene a prísne kontrolovanou homeostázou črevnej flóry. Dysregulácia metabolizmu lipidov sa často prejavuje ako nerovnováha medzi syntézou, vychytávaním a oxidáciou lipidov, čo následne spôsobuje zápal pečene a fibrózu. (*Moustafa et al., 2012 ; Ristić-Medić et al., 2013 ; Arain et al., 2017*). Ukázalo sa, že inhibícia acetyl-CoA karboxylázy (ACC) narúša β -oxidáciu mastných kyselín a de novo lipogenézu na zníženie zdrojov energie na aktiváciu HSC. (*Hernández-Gea a Friedman 2012 ; Trivedi et al., 2021*). Je zaujímavé, že receptor gama aktivovaný peroxizómovým proliferátorom (PPAR- γ) a proteín viažuci sterolový regulačný prvok (SREBP-1c), ktoré sú markermi pokojových HSC, modulujú adipogénny program, a tým regulujú aktiváciu HSC. (*Eberlé a kol., 2004 ; Tsukamoto 2005 ; Tsukamoto a kol., 2006 ; Shao a kol., 2016*). Aktivácia farnesoidných X receptorov (FXR) môže potlačiť aktiváciu HSC a fibrózu pečene prostredníctvom zníženia triglyceridov. (*Maloney a kol., 2000 ; Fiorucci a kol., 2004*). Prekvapivo sa tiež navrhlo, že črevná flóra môže slúžiť ako nezávislé regulátory metabolizmu pečene, a tým ovplyvňovať progresiu, prognózu a regresiu fibrózy pečene. (*Wei a kol., 2013*).

Tento pohľad bol konceptualizovaný ako os črevo-pečeň a bol zameraný na nedávne štúdie o fibrogenéze. *Chen a kol.* ukázali, že v porovnaní so zdravými pacientmi majú pacienti s cirhózou vyšší podiel patogénnych Enterobacteriaceae a Streptococcaceae a nižší podiel prospešných Lachnospiraceae. (*Chen Y. a kol., 2011*). Okrem toho sa ukázalo, že experimentálne zníženie črevnej flóry sprostredkované antibiotikami znižuje množstvo mikroorganizmov v mikroprostredí pečene, čím sa zmiernuje fibróza pečene. (*Seki a kol., 2007*). Naopak, myši bez mikróbov vykazujú závažnejšie ukladanie ECM a fibrózu pečene ako normálne myši. (*Mazagová a kol., 2015 ; Henderson a kol., 2020*). Tieto výsledky naznačujú, že niektoré črevné flóry sú hepatoprotektívne a iné škodlivé a že dysbióza črevnej flóry je kľúčovou hybnou silou aktivácie HSC a fibrózy pečene. Metabolizmus lipidov a črevná flóra si teda môžu vyžadovať prieskum ako ciele pre lieky na liečbu fibrózy pečene.

Napriek narastajúcim histologickým dôkazom, ktoré naznačujú, že fibróza pečene je reverzibilná (*Ni a kol., 2014 ; Mogler a kol., 2015*), žiadne metódy nedokážu úplne zastaviť patologický proces. Súčasnú lieky používané pri liečbe fibrózy pečene sú primárne založené na protizápalovom a oxidačnom strese s obmedzenými účinkami. (*Czaja 2014*). Preto existuje naliehavá potreba vyvinúť a overiť účinné terapie, ktoré sa špecificky zameriavajú na

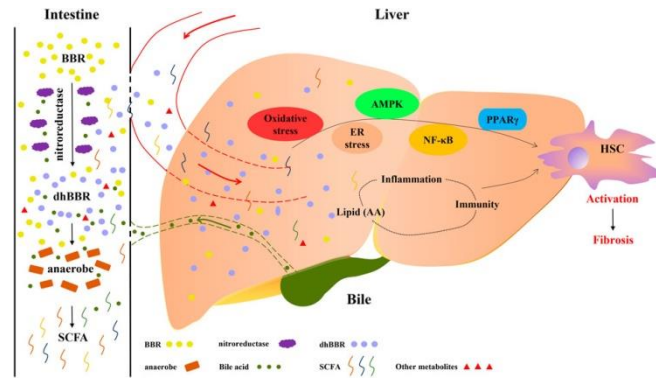
fibrózu pečene. Údaje ukazujú, že berberín (BBR) funguje prostredníctvom viacerých sietí na ochranu pečene, odolnosť proti fibróze a zlepšenie metabolizmu. (*Zhang BJ. a kol., 2008* ; *Sun a kol., 2009* ; *Kumar a kol., 2015* ; *Zhang a kol., 2016*). V tomto prehľade skúmame základné mechanizmy biologickej aktivity BBR súvisiace s metabolizmom lipidov a črevnou flórou a jej terapeutickým potenciálom proti fibróze pečene.

Zdroje, biologická dostupnosť a farmakokinetické charakteristiky berberínu a jeho derivátov

BBR alebo 2,3-metyléndioxy-9,10-dimetoxyprotoberberínchlorid je kvartérna amóniová soľ s molárnou hmotnosťou 336,36122 g/mol. (*Caliceti a kol., 2016*). BBR má množstvo biologických aktivít, ako sú antibakteriálne, protizápalové, (*Kumar et al., 2015*) protirakovinové, (*Pandey et al., 2008*) antidiabetické, (*Zhang Y. et al., 2008*) a hypolipidemické (*Kong et al. ., 2004*) činnosti. BBR sa však samoagreguje, nepreniká efektívne do tkanív, podlieha efluxu a hepatobiliárnej reexkrécii (*Feng et al., 2015*) a podlieha spracovaniu pri prvom prechode v tenkom čreve. BBR sa teda v tele zle vstrebáva a má absolútnu biologickú dostupnosť 0,36 %. (*Liu a kol., 2010*). BBR sa metabolizuje v pečeni oxidačnou demetyláciou, ktorú vykonáva enzýmový systém cytochrómu P450 (hlavne CYP2D6, CYP1A2 a CYP3A4), čím sa získajú štyri hlavné metabolity fázy I (demetylénberberín, berberrubín, jatrorrhizín a talifendín) (*Liu et al. ., 2016*); tieto sú následne glukuronidované prostredníctvom UDP-glukuronozyltransferázy (UGT) na ich zodpovedajúce metabolity fázy II. (*Guo a kol., 2016* ; *Liu a kol., 2016*). Tieto metabolity BBR pôsobia na rovnaké ciele ako BBR (napr. AMPK a receptor lipoproteínov s nízkou hustotou (LDLR)), ale s nižšou účinnosťou. (*Li a kol., 2011a*). V konečnom dôsledku sa BBR a jeho deriváty vylučujú primárne hepatobiliárnymi a renálnymi cestami. Existuje teda potreba účinných stratégií na zlepšenie orálnej biologickej dostupnosti BBR, aby sa umožnilo jeho efektívne použitie v klinických podmienkach.

Antifibrózne účinky berberínu v pečeni

Niekoľko štúdií preukázalo účinnosť BBR proti fibrotickým ochoreniam in vivo , vrátane pľúcnej fibrózy, (*Chitra et al., 2015*), fibrózy myokardu, (*Zhang et al., 2014*) renálnej fibrózy, (*Wang et al., 2014*) a adipóze tkanivová fibróza (*Xu X. et al., 2021*) a mnohostranné kauzálne vzťahy ilustrujú účinnosť BBR proti fibróze pečene. (*Wang a kol., 2016* ; *Bansod a kol., 2021*). Ako multifunkčné liečivo používané v tradičnej čínskej medicíne možno berberín (BBR) použiť na liečbu rôznych ochorení pečene. (*Yang a kol., 2021*). Najnovšia štúdia nášho tímu ukazuje, že BBR je potenciálnym činidlom proti fibróze pečene. Na modeloch fibrotických myši sme zistili, že BBR zmiernuje fibrózu pečene indukciou redoxných reakcií železitých iónov na aktiváciu ferroptózy sprostredkovej reaktívnymi formami kyslíka (ROS) v pečeneových hviezdicových bunkách, čo naznačuje možnú stratégiu liečby fibrózy pečene. (*Yi a kol., 2021*). Podobné účinky BBR v modeloch fibrózy pečene indukovanej chloridom uhličitým (CCl₄) nedávno preukázal aj iný tím. (*Bansod a kol., 2021*). Aktivitu BBR proti týmto multifaktoriálnym chronickým ochoreniam možno pripísať jeho viacúčelovému spôsobu účinku. (*Zhang a kol., 2011*). Zápal a oxidačný stres sú kľúčovými hnacími silami fibrózy pečene a bolo jasne preukázané, že BBR má protizápalové a antioxidačné účinky. (*Zhou a kol., 2008* ; *Jeong a kol., 2009* ; *Shang a kol., 2010*). Je to preto, že aktivita BBR proti fibróze pečene bola v posledných rokoch skúmaná v mnohých štúdiách. (*Zhang BJ. a kol., 2008* ; *Sun a kol., 2009* ; *Zhang a kol., 2016*). Ako je znázornené na obrázku 1 , boli široko preskúvané rôzne mechanizmy účinku BBR, ako je jeho regulácia aktivácie HSC, oxidačný stres, zápal, metabolizmus lipidov, AMPK a ER stres a signálne dráhy súvisiace s NF-KB a PPARy.



Terapeutické účinky berberínu (BBR) na cirhózu pečene sú spojené s metabolizmom lipidov a črevnou flórou. BBR sa mení na dihydroberberín (dhBBR) a ďalšie metabolity pôsobením nitroreduktázy alebo špecifických črevných mikroorganizmov. dhBBR, iné metabolity a nemetabolizovaný pro-BBR zase pôsobia na črevnú flóru (ako sú anaeróby) a regulujú ekosystém mikroorganizmov a koncentrácie črevných metabolitov, ako sú mastné kyseliny s krátkym reťazcom. Nemetabolizované pro-BBR, deriváty BBR a črevné metabolity vstupujú do pečene cez portálnu žilu a následne zmiernujú fibrózu pečene moduláciou metabolizmu lipidov a reguláciou pečenej signalizácie. Potenciálne mechanizmy, ktorými BBR redukuje fibrózu, zahŕňajú reguláciu oxidačného stresu, ER stresu, AMPK, NF- κ B a PPAR γ signalizáciu a moduláciu imunitných a zápalových reakcií prostredníctvom produkcie lipidových mediátorov.

Priame účinky berberínu na fibrózu pečene

Základným znakom fibrózy pečene je abnormálna aktivácia HSC a ukázalo sa, že BBR je potenciálnou liečbou pre modely fibrózy pečene indukovanej tioacetamidom (TAA), CCl₄, etanolom a vysokým cholesterolem; v týchto súvislostiach pravdepodobne pôsobí potláčaním aktivácie HSC a downreguláciou alfa-aktínu hladkého svalstva (α -SMA) a transformáciou hladín rastového faktora β 1 (TGF- β 1). (*Sun a kol., 2009 ; Domitrovic a kol., 2013 ; Eissa a kol., 2018 ; Bansod a kol., 2021*). Predchádzajúce štúdie ukázali, že priame priaznivé účinky BBR zahŕňajúce moduláciu expresie viacerých génov zapojených do aktivácie HSC, proliferácie cholangiocytoch a fibrózy pečene sú spojené s downreguláciou dvoch dôležitých ribonukleotidových molekúl, ktoré podporujú progresiu fibrózy pečene: mikroRNA34a a dlhá nekódujúca RNA H19. (*Wang a kol., 2021*). Ďalším bežne uvádzaným mechanizmom je indukcia zastavenia cyklu HSC vo fáze G1, ktorá inhibuje aktiváciu HSC a zabraňuje fibróze pečene. (*Zhou a kol., 2021*). Okrem toho sa zistilo, že BBR má priamu antifibrotickú aktivitu pri fibróze pečene vyvolanej ligáciou žlčových ciest v dôsledku potlačenia aktivácie HSC a (čiastočne) v dôsledku inhibície signálnej dráhy AMPK. (*Wang a kol., 2016*). Iné štúdie však zistili, že BBR má hepatoprotektívne účinky a zabraňuje fibróze pečene aktiváciou signálnej dráhy AMPK. (*Li a kol., 2014 ; Wang a kol., 2016 ; Bansod a kol., 2021*). Ukázalo sa tiež, že BBR aktivuje dráhu proteínkinázy aktivovanej AMP (AMPK) a inhibuje polarizáciu makrofágov a signalizáciu TGF- π /Smad3, čím zmiernuje fibrózu tkaniva. (*Xu X. a kol., 2021*). Stres ER môže byť ďalším cieľom liečby BBR a skutočne sa potvrdilo, že zníženie stresu ER bolo najlogickejším vysvetlením skutočnosti, že BBR bráni progresii steatózy pečene do fibrózy. (*Zhang a kol., 2016*). Okrem toho sa ukázalo, že BBR priamo zmiernuje pečenevé metabolické poruchy spôsobené poškodením pečene znížením stresu ER v hepatocytoch (*Yang et al., 2021*) a inhibícia zníženia oxidačného stresu ER sprostredkovaného signalizáciou Akt/FoxO1 bola spojená s BBR. liečba fibrózy

pečene. (*Bansod a kol., 2021*). V inej práci *Zhang a kol.* uviedli, že BBR zabraňuje fibróze pečene reguláciou antioxidačného systému a peroxidácie lipidov vo viacerých modeloch fibrózy vyvolanej hepatotoxickými faktormi, čo sa prejavilo zlepšenou funkciou pečene, zvýšeným antioxidačným indexom a znížením markerov fibrózy. (*Zhang B.J. a kol., 2008; Bansod a kol., 2021*). Normalizácia funkcie pečene sprostredkovaná BBR, potlačenie zápalu, zlepšenie ukladania ECM a prevencia fibrózy korelujú s reguláciou NF- κ B a PPARy. (*Cao H. a kol., 2018*).

Mnohé protirakovinové látky, ako je metotrexát, (*Sadeghian et al., 2018*), doxorubicín (*Zhao et al., 2012*) a cyklofosamid, (*Germoush a Mahmoud 2014*) sú hepatotoxické (a teda spôsobujú hepatitídu, steatokrohepatitídu, fibrózu pečenevých buniek alebo cirhóza) a je nevyhnutné identifikovať spôsoby, ako obmedziť túto hepatotoxicitu. Je preto povzbudzujúce, že histopatologické zmeny pečene vyvolané protirakovinovými liekmi, vrátane fibrózy, sa liečbou BBR v štúdiách na zvieratách výrazne znížili. (*Zhao a kol., 2012 ; Germoush a Mahmoud, 2014*).

Perorálne podávaný BBR vykazoval terapeutické účinky u pacientov s cirhózou v japonskej klinickej štúdií z roku 1982, pričom tieto účinky boli spôsobené BBR inhibíciou črevnej bakteriálnej tyrozínkarboxylázy. (*Watabe a kol., 1982*). Okrem toho niektoré randomizované, placebom kontrolované štúdie zistili, že BBR má pozitívne účinky u hyperlipidemických pacientov s cirhózou súvisiacou s vírusovou hepatitídou. (*Riccioni et al., 2018*). Existuje však len málo klinických správ, ktoré dokazujú, že BBR môže zmierniť cirhózu, a na to sa musia vykonať správne navrhnuté klinické štúdie. Na tento účel naša skupina v súčasnosti vykonáva randomizovanú kontrolovanú štúdiu s cieľom posúdiť, či BBR môže spustiť regresiu fibrózy súvisiacej s hepatitídou B (ChiCTR1900023426) a naše predbežné výsledky sú povzbudivé.

Účinky berberínových metabolitov na fibrózu pečene

Keďže absolútna biologická dostupnosť BBR je extrémne nízka (<1 %) a viac ako polovica pro-BBR sa neabsorbuje v čreve, BBR sa premieňa črevnou flórou na absorbovateľné metabolity, ako je dihydroberberín (dhBBR), oxyberberín (OBB) , canadine a ďalšie zlúčeniny. (*ENRIZ a kol., 2006 ; Liu a kol., 2010a ; Chen W. a kol., 2011 ; Feng a kol., 2015*). Dva z týchto metabolických produktov BBR, dhBBR a OBB, vykazujú lepšie protizápalové a antioxidačné funkcie v porovnaní s pro-BBR, pretože modulujú črevnú flóru a inhibujú signalizáciu TLR4-MyD88-NF- κ B a MAPK, čo vedie k zníženiu hladiny prozápalových cytokínov tumor nekrotizujúceho faktora (TNF)- α , interleukínu (IL)-17, interferónu (IFN)- γ , IL-1 β a IL-6 a imunoglobulínu IgA. (*Li a kol., 2019 ; Tan a kol., 2019 ; Li a kol., 2020*). Predchádzajúce štúdie odhalili, že dhBBR znižuje zápal prostredníctvom mechanizmu súvisiaceho s inflammasómom 3 (NLRP3) receptora podobného receptoru pyrínu (NLRP3), ktorý pravdepodobne znižuje uvoľňovanie kaspázy-1, škvrnitého proteínu spojeného s apoptózou (ASC) a IL-1 β na inhibíciu pyroptotickej bunkovej smrti, čo je forma programovanej bunkovej smrti, ktorá sa vyskytuje pri fibróze pečene. (*Xu a kol., 2021a ; de Carvalho Ribeiro a Szabo, 2021*). dhBBR môže mať dokonca lepšie antisklerotické účinky ako BBR. (*Chen a kol., 2014*).

Bolo publikované, že liečba OBB zvyšuje aktivity superoxiddismutázy (SOD), katalázy (CAT) a glutatiónperoxidázy (GSH-Px) a znižuje koncentrácie reaktívnych foriem kyslíka (ROS), malondialdehydu (MDA) a myeloperoxidázy (MPO), aby sa znížil oxidačný stres . Obnova funkcie pečene sprostredkovaná OBB môže preto brániť progresii ochorenia pečene a podporovať regeneráciu pečene. (*Dou a kol., 2021*). Ukázalo sa tiež, že OBB zlepšuje

patologické zhoršenie adipocytov a hepatocytov prostredníctvom AMPK dráhy a stimuluje výdaj energie na kontrolu homeostázy lipidov pri menších dávkach ako BBR. Okrem toho sa ukázalo, že OBB inhibuje migráciu makrofágov a spúšťa fenotypovú konverziu makrofágov M1 na makrofágy M2 na zmiernenie zápalovej záťaže pečene. (*Li a kol., 2021*). Prekvapivo sa uvádza, že deriváty BBR dhBBR, canadine, stylopin a koptisin inhibujú sekréciu kolagénu indukovanú TGF- π in *vitro* fibrotických stavov a majú protizápalové, antifibrotické, hojenie rán podporujúce a cytoprotektívne aktivity. (*Pietra a kol., 2015*).

V súhrne sa zdá, že metabolity BBR majú podobné účinky ako proliečivo BBR, pokiaľ ide o protizápalové, antioxidantné a antifibrózne aktivity. Navyše, prvý sa javí bezpečnejší a účinnejší ako samotný BBR. BBR a jeho deriváty sa teda musia preskúmať v budúcom výskume fibrózy pečene.

Berberín zmierňuje fibrózu pečene úpravou metabolizmu lipidov

Farmakologické a klinické dôkazy jasne preukázali účinnosť BBR pri liečbe metabolických ochorení, vrátane nealkoholického stukovatenia pečene a hyperlipidémie. Tieto účinky sú čiastočne založené na regulácii rôznych metabolických procesov, ako je inhibícia lipogenézy a fibrózy tukového tkaniva a mechanická redukcia steatózy pečene. (*Xu X. a kol., 2021*). Pečeň je hlavným miestom metabolizmu lipidov a existuje potenciálne spojenie medzi fibrózou pečene a poruchami metabolizmu lipidov. Okrem toho dysregulácia metabolických dráh kyseliny arachidónovej je čiastočne zodpovedná za poruchy pečeneového mikroprostredia, ktoré vedú k fibróze alebo cirhóze pečene s rôznou etiológiou. (*Hayashi a kol., 2001 ; Song a kol., 2008 ; Isomoto 2009 ; Ishihara a kol., 2012 ; Ristić-Medić a kol., 2013 ; Arain a kol., 2017*). Dysfunkčný metabolizmus lipidov nie je len dôsledkom cirhózy pečene, ale vytvára začarovaný kruh s cirhózou. (*Moustafa a kol., 2012 ; Gaggini a kol., 2019*). Zmeny v lipidových profiloch pacientov s chronickým ochorením pečene môžu naznačovať progresiu smerom k fibróze a určité lipidové profily predstavujú rôzne štádiá fibrózy pečene. (*Gaggini a kol., 2019*). Yang a kol. nedávno uviedli, že BBR zlepšuje metabolickú poruchu lipidov pri poškodení pečene vyvolanom tunicamycinom. (*Yang a kol., 2021*). BBR by tiež mohla významne znížiť akumuláciu lipidov v pečeni moduláciou syntézy a metabolizmu mastných kyselín, aby sa zabránilo progresii nealkoholickej steatohepatitídy a fibrózy pečene. (*Wang a kol., 2021*). Niekoľko latentných mechanizmov, ako je oxidačný stres (*Zhang BJ. et al., 2008*) a ER stresové mechanizmy, (*Zhang et al., 2016 ; Yang et al., 2021*) boli rozsiahle preskúmané z hľadiska ich úlohy v schopnosti BBR. a jeho metabolitov na liečbu poškodenia pečene, progresívnej fibrózy a cirhózy, ale je známych len málo podrobností o mechanizme, ktorým BBR reguluje metabolizmus lipidov u pacientov s fibrózou pečene.

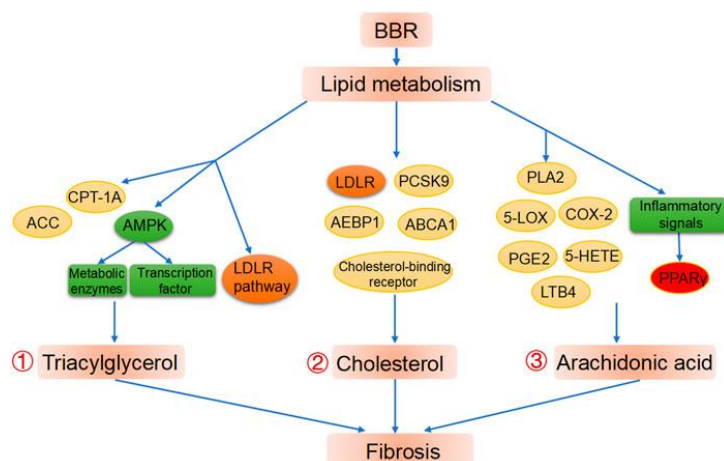
Zistilo sa, že podávanie BBR súčasne zmierňuje expresiu génov súvisiacich s lipogenezou, zápalom a fibrózou; to predstavuje ďalší možný mechanizmus podporujúci účinok BBR proti fibróze pečene a pravdepodobne súvisí s hypolipidemickými mechanizmami. (*Luo et al., 2019*). Nealkoholické stukovatenie pečene (NAFLD) sú chronické progresívne ochorenia a približne jedna tretina prípadov NAFLD prechádza od hepatitídy cez nealkoholickú steatohepatitídu (NASH) až po fibrózu alebo cirhózu pečene. (*Cicero et al., 2018*). Metaanalýza účinnosti BBR pri NAFLD zistila, že BBR oddialila alebo potlačila fibrotický proces vo vývoji NAFLD zlepšením lipidových parametrov a zmiernením steatózy pečene. (*Wei a kol., 2016*). Okrem toho klinické nálezy ukázali, že BBR zvyšuje funkciu pečene u hyperlipidemických pacientov s alkoholickou cirhózou pečene alebo cirhózou hepatitídy C vytvorením pozitívnej spätnej väzby so sérovým cholesterolom, triglyceridmi a

lipoproteínom s nízkou hustotou-c (LDL-C) bez toho, aby spôsobil akékoľvek nepriaznivé účinky. (*Zhao a kol., 2008a*).

Regulácia metabolizmu triacylglycerolov berberínom

Zvýšené koncentrácie triglyceridov sú kľúčovým prispievateľom k poruchám lipidového profilu a metabolickému syndrómu a schopnosť BBR znižovať koncentrácie triglyceridov v pečeni a krvi bola presvedčivo dokázaná v experimentoch na zvieratách aj v štúdiách na ľuďoch. (*Hu et al., 2012 ; Li a kol., 2018*). Ako taký sa BBR používa v mnohých krajinách ako liek na zníženie lipidov na liečbu hyperlipidémie. (*Affuso a kol., 2010*). Pokusy na zvieratách ukázali, že predbežné podanie BBR môže znížiť akumuláciu triglyceridov v pečeni spôsobenú podávaním tunikamycínu, čím sa lieči poškodenie pečene. Najmä v porovnaní s kontrolnou skupinou skupina BBR znížila reguláciu génovej expresie stearyl-koenzýmu A desaturázy 1 (SCD1) súvisiacej s metabolizmom lipidov. (*Yang a kol., 2021*). Účinnosť BBR na zníženie triglyceridov sa dá pripísať jeho klesajúcej biosyntéze triglyceridov a zvyšujúcej sa oxidácii triglyceridov. AMPK je nevyhnutný na kontrolu metabolizmu lipidov v zmysle lipogenézy alebo degradácie lipidov, vzhľadom na to, že ovplyvňuje transkripčné faktory a metabolické enzýmy. (*Fryer a Carling 2005*).

BBR tiež znižuje ukladanie lipidov v pečeni reguláciou AMPK, ktorá vyrovnáva biosyntézu a oxidáciu mastných kyselín. (*Boudaba et al., 2018*). Zhu a kol. zistili, že BBR môže aktivovať dráhu AMPK-SREBP-1c, čo vedie k zníženiu expresie pečenej stearyl CoA desaturázy 1 a iných génov súvisiacich s biosyntézou triglyceridov (TG) a k zoslabeniu ukladania TG v pečeni, čo zmiernuje NAFLD. (*Zhu a kol., 2019*). Štúdie na zvieratách ukazujú, že BBR môže zlepšiť zvýšenie sérových koncentrácií triglyceridov vyvolané diétou s vysokým obsahom tukov, čím sa zlepši steatóza pečene a fibróza prostredníctvom dráhy SIRT3/AMPK/ACC. (*Yu-pei a kol., 2019*). Okrem toho steatóza pečene vyvolaná diétou s vysokým obsahom tukov je významne inhibovaná liečbou BBR, čo sa odráža v upregulovanej expresii proteínov zapojených do oxidácie mastných kyselín, vrátane ACC a karnitín palmitoyltransferázy IA. (*Zhang a kol., 2019b*). BBR môže tiež regulovať dráhu LDLR, pomocou ktorej BBR downreguluje gény biosyntézy mastných kyselín a upreguluje gény oxidácie mastných kyselín v adipocytoch. (*Lee a kol., 2006 ; Lee a kol., 2007*). Xu a kol. tiež zistili, že BBR môže zlepšiť systematickú homeostázu lipidov podporou β -oxidácie mastných kyselín; konkrétne spôsobuje deacetyláciu acyl-CoA dehydrogenázy s dlhým reťazcom prostredníctvom aktivácie SIRT3. (*Xu a kol., 2019*). Metaanalýza klinických štúdií bola v súlade s dôkazmi uvedenými vyššie, pretože zistilo, že BBR znižuje koncentrácie TG v krvi v závislosti od dávky. (*Dong a kol., 2013*). Preto môže byť regulácia metabolizmu triacylglycerolu kritickou súčasťou mechanizmu účinku BBR.



BBR zlepšuje fibrózu pečene modifikáciou metabolizmu lipidov. Regulácia BBR na metabolizmus triacylglycerolov. Regulácia BBR na metabolizmus cholesterolu. Regulácia BBR na metabolizmus cholesterolu a PPAR γ ako potenciálny cieľ pri fibróze liečenej BBR.

Regulácia metabolizmu cholesterolu berberínom

Schopnosť BBR znižovať koncentrácie cholesterolu bola prvýkrát opísaná v teste na ľuďoch, zvieratách a bunkách v roku 2004 (*Kong et al., 2004a*) a následne sa zistilo, že BBR má rovnaký účinok pri diabetes mellitus (*Zhang Y. et al., 2008*) a pacientov s cirhózou (*Zhao et al., 2008a*). Zistilo sa tiež, že metabolit BBR fázy I berberrubín môže znižovať koncentrácie cholesterolu zacielením na expresiu LDLR. (*Cao S. a kol., 2018*). Užitočnosť BBR ako lieku na zníženie hladiny cholesterolu bola dôsledne potvrdená v klinickom výskume a je široko používaný ako liek v ázijskej populácii. Klinické štúdie a rôzne modely chorôb boli navrhnuté tak, aby potvrdili priaznivé účinky BBR na reguláciu homeostázy cholesterolu. Abnormálna homeostáza cholesterolu bola v rôznej miere zvrátená po intervencii BBR, a to bolo rozsiahle testované v štúdiách na ľuďoch a na hyperlipidemických a diabetických zvieracích modeloch. (*Wang a Zidichouski 2018*). Početné randomizované kontrolované štúdie ukázali, že suplementácia BBR zlepšuje krvný profil celkového cholesterolu, LDL-C a lipoproteínu C s vysokou hustotou (HDL-C), ale niektoré štúdie nepozorovali HDL-C. (*Kong a kol., 2004a ; Derosa a kol., 2013 ; Wei a kol., 2016*). Okrem toho schopnosť statínov znižovať koncentrácie cholesterolu významne zvyšuje BBR. (*Moss a Ramji 2016*).

Mechanizmy, ktorými BBR reguluje koncentrácie cholesterolu, súvisia s protizápalovými procesmi alebo s post-transkripčnou upreguláciou exprese LDLR. (*Kong et al., 2004a ; Pirillo a Catapano 2015*). Proproteín konvertáza subtilizín/kexín typu 9, ktorý riadi degradáciu LDLR, je inhibovaný BBR, a teda je spojený so schopnosťou BBR znižovať koncentrácie cholesterolu. (*Barbagallo a kol., 2015*). Navyše gén A1 transportéra kazety viažuci adenosíntrifosfát, ktorý sa podieľa na odtoku cholesterolu, je upregulovaný podávaním BBR. (*Lee a kol., 2010*). Podobne BBR urýchľuje vylučovanie cholesterolu inhibíciou proteínu 1 viažuceho zosilňovač adipocytov (*Huang et al., 2012*) alebo rozšírením receptora viažuceho cholesterol, čo zodpovedá za jeho hepatoprotektívne vlastnosti. (*Zarei et al., 2015*).

Účinky berberínu na dráhu kyseliny arachidónovej

Kyselina arachidónová je esenciálna nenasýtená mastná kyselina, ktorá sa za fyziologických podmienok ukladá v bunkových membránach vo forme fosfolipidov. Uvoľňuje sa z fosfolipidového poolu pod rôznymi stimulmi pomocou fosfolipázy A2 (PLA2) a následne sa premieňa na širokú škálu biologicky aktívnych metabolitov, ktoré indukujú zápalovú kaskádu, ako je 15-deoxy-A12,14-prostaglandín J2 (15 dní-PGJ2), tromboxán B2 a prostaglandín E2 (PGE2). (*Funk 2001*). Cyklooxygenáza (COX), lipoxygenáza (LOX) a cytochróm P450 (CYP450) sú kľúčové enzýmy v metabolizme kyseliny arachidónovej. (*Funk 2001 ; Calder 2009*). Niektoré metabolické enzýmy zapojené do dráhy kyseliny arachidónovej môžu byť inhibované BBR, a to bolo ilustrované v rôznych patologických procesoch. Konkrétne môže BBR ovplyvniť aktivitu metabolických enzýmov, ako je PLA2 (*Huang a kol., 2002 ; Li a kol., 2015 ; Yarla a kol., 2016a ; Zhao a kol., 2017*), arachidonát 5-lipoxygenáza (5- LOX) (*Li a kol., 2012*) a COX-2 (*Guo a kol., 2008 ; Feng a kol., 2012 ; Li a kol., 2012 ; Wang a Zhang 2018*), a následne ovplyvňuje produkciu metabolity, ako je PGE2 a kyselina 5-hydroxyeikozatetraénová na reguláciu priebehu ochorenia. (*Huang a kol., 2002 ; Zeng a kol., 2011*). Analýza systému MetaboAnalyst ukázala, že dráha kyseliny arachidónovej ovplyvňuje biologickú aktivitu BBR pri rakovinových intervenciách. (*Li a kol.,*

2017). Napríklad účinky BBR proti hepatocelulárnemu karcinómu zahŕňajú inhibíciu cytosolických PLA2 a COX-2. (*Li a kol., 2015*). Rozsiahle štúdie rôznych výskumných skupín dokázali, že BBR inhibuje expresiu COX-2 a tým znižuje produkciu PGE2. (*Kuo a kol., 2005 ; Singh a kol., 2011*). BBR je tiež hlavným prvkom receptúry tradičnej čínskej medicíny a v tejto forme sa zistilo, že inhibuje expresiu COX-2 a 5-LOX a znižuje produkciu zápalových metabolitov PGE2 a leukotriénu B4, čím zlepšuje účinky zápalovej kaskády. (*Li a kol., 2012*).

Okrem toho štúdie metabolických enzýmov (najmä COX-2) naznačujú, že BBR prospieva fibróze pečene spôsobom závislým od dráhy kyseliny arachidónovej. Domitrović a spol. zistili, že BBR poskytuje ochranu proti poškodeniu pečene vyvolanému CCl₄ spôsobom závislým od koncentrácie, čo je čiastočne možné pripísať zníženej zápalovej reakcii súvisiacej s COX-2. (*Domitrović et al., 2011*). Podobne aj potlačenie zápalových reakcií vyvolaných COX-2 sa podieľa aj na ochranných účinkoch BBR proti hepatotoxicite vyvolanej liekmi. (*Germoush a Mahmoud 2014*). Fibróze pečene predchádza zápal a môže v konečnom dôsledku viesť k rakovine pečene, pričom o oboch z nich sa všeobecne uvádza, že majú prospech z liečby BBR v dôsledku jej inhibície dráhy kyseliny arachidónovej (*Domitrović a kol., 2011 ; Germoush a Mahmoud 2014 ; Li a kol., 2015 ; Yarla a kol., 2016a ; Zhang F. a kol., 2019*), ktorý obsahuje od vápnika nezávislé PLA2 a COX-2. Tieto zistenia týkajúce sa patologického vývoja chronických ochorení pečene a biologickej funkcie BBR naznačujú, že BBR a jeho deriváty by sa mohli použiť na liečbu fibrózy pečene prostredníctvom mechanizmov súvisiacich s kyselinou arachidónovou.

Receptor gama aktivovaný peroxizómovým proliferátorom ako potenciálny cieľ berberínu

Je dobre známe, že PPARy je kľúčovou molekulou zapojenou do patogenézy fibrózy pečene. (*Zardi et al., 2013*). PPARy je kódovaný génom PPARG a agonisty PPARG (napr. IFC305 a pioglitazón) bránia fibróze pečene inhibíciou aktivácie HSC a reguláciou expresie génov súvisiacich s adipogénnym a fibrogénnym génom. (*Yuan a kol., 2004 ; Perez-Carreón a kol., 2010*). PPARy je tiež kľúčovým transkripčným regulátorom génov zapojených do metabolizmu lipidov, fibrózy pečene, metabolizmu tukov a diferenciácie adipocytov pre vývoj a funkčnú údržbu tukového tkaniva. (*Hazra a kol., 2004 ; Ueki a kol., 2004*). Je zaujímavé, že BBR reguluje metabolizmus lipidov precíznou kontrolou transkripcie a translácie jadrových reportérov. (*Zhou a kol., 2008*). PPAR majú jeden z dvoch rôznych typov účinkov na metabolický proces mastných kyselín v závislosti od ich podtypu. Na jednej strane BBR inhibuje produkciu TG pôsobením s PPARa na zvýšenie expresie génu kódujúceho enzým karnitín palmitoyltransferázu IA oxidáciu mastných kyselín. (*Zhou a kol., 2008 ; Yu a kol., 2016*). Na druhej strane PPARy podporuje *de novo* syntézu mastných kyselín a príjem mastných kyselín. (*Zhou a kol., 2008*). Zhou a kol. ukázali, že znížená expresia PPARy môže byť spojená s downreguláciou adipogénnych génov v prítomnosti BBR. (*Zhou a kol., 2008*). Vysokovýkonné skríningové testy tiež naznačili, že prírodný extrakt BBR obsahuje potenciálne agonisty všetkých podtypov PPAR (*Xia a kol., 2013 ; Tu a kol., 2016 ; Yu a kol., 2016*) a že tieto môžu regulovať progresiu ochorenia pečene tým, že pôsobia ako ligandy. Zaujímavé je, že metabolické produkty kyseliny arachidónovej boli tiež hlásené ako PPARy ligandy a transkripčné aktivátory (*Xu a kol., 1999 ; Choi a Bothwell 2012*), ktoré inhibujú aktiváciu zápalových signálov, čím modulujú fibrózu pečene prostredníctvom regulácie PPARy. Antifibrózný účinok agonistov PPARy (ako je 15 dní-PGJ2) sa pozoroval na modeloch zjazvenia a prejavil sa ako poklesy v extracelulárnej matrixi HSC vyvolané TGF- β . Tieto zistenia naznačujú, že BBR pôsobí na fibrózu pečene

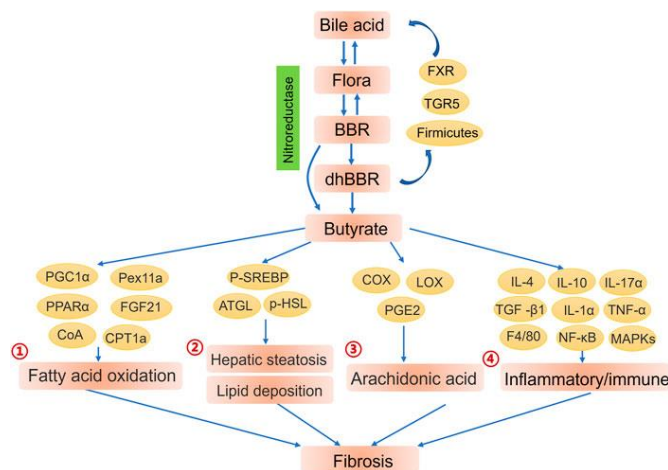
prostredníctvom aktivácie PPARy sprostredkovanou cestou kyseliny arachidónovej. To je podporené výskumom, ktorý ukazuje, že 15dPGJ2 odvodený od kyseliny arachidónovej tlmí fibrotické ochorenia aktiváciou PPARy a že tento účinok je zosilnený súčasným podávaním 15dPGJ2 a BBR. (Guan a kol., 2018). Zdá sa teda, že PPARy je kľúčovým cieľom BBR.

Záverom možno povedať, že štúdie potvrdili vzťah medzi BBR, dráhami metabolizmu lipidov a následnými signálnymi kaskádami, najmä dráhou kyseliny arachidónovej. BBR preto môže zmierniť fibrózu reguláciou PPARy a obnovením homeostázy lipidov prostredníctvom modulácie metabolizmu kyseliny arachidónovej. Na ďalšie objasnenie vhodných klinických aplikácií sú potrebné komplexnejšie štúdie o účinkoch BBR na PPAR γ , enzýmy a následné metabolity v dráhe kyseliny arachidónovej.

Regulácia črevnej flóry aplikáciou BBR je nová liečebná stratégia. BBR zlepšuje dysreguláciu črevnej flóry a obnovuje črevnú bariéru, účinne znižuje koncentrácie lipidov v plazme a lipolýzu. (Xu X. a kol., 2021). BBR môže tiež výrazne znížiť hladiny oportúnnych patogénov a zvýšiť hladiny probiotík. (Xu X. a kol., 2021). S ohľadom na príspevky črevnej flóry k biologickej funkcii BBR pri liečbe ochorenia pečene Yang et al. ukázali, že BBR zmiernuje poškodenie pečene vyvolané tunicamycínom reguláciou črevnej flóry u myší, čo sa dosahuje moduláciou pomerov *Prevotellaceae* a *Erysipelotrichaceae* v čreve. (Yang a kol., 2021).

Črevná flóra - zlepšenie účinnosti absorpcie berberínu

Hoci je orálna biologická dostupnosť BBR obmedzená, črevná flóra podporuje absorpciu a zvyšuje účinnosť BBR. Metabolity BBR generované črevnou flórou sa považujú za kľúčové pre biologickú aktivitu BBR; najmä dihydroberberín (dhBBR), ktorý má menšiu biologickú aktivitu ako BBR, ale približne päťkrát vyššiu rýchlosť absorpcie v čreve ako BBR. (Feng a kol., 2015). Premena BBR na dhBBR, ktorá je katalyzovaná nitroreduktázou, je teda krokom obmedzujúcim rýchlosť, ktorý riadi množstvo BBR vstupujúceho do krvi. Nitroreduktáza je prítomná v mnohých črevných baktériách, ako je *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus casei* a *L. acidophilus*. (Feng a kol., 2015). Úloha črevnej nitroreduktázy pri potencovaní biologickej dostupnosti BBR je podporovaná skutočnosťou, že BBR má väčšiu účinnosť u jedincov s vyššou aktivitou nitroreduktázy. (Wang a kol., 2017b). Okrem toho BBR zvyšuje populácie probiotík obsahujúcich nitroreduktázu, ako je *Clostridia*. (Lemmon a kol., 1997 ; Cui a kol., 2018). Po vstupe do črevných tkanív sa dhBBR okamžite reoxiduje na BBR. (Feng a kol., 2015). Tieto zistenia naznačujú, že nitroreduktáza odvodená od črevnej flóry môže byť biomarkerom terapeutickú účinnosti BBR.



Črevná flóra a žľčová kyselina zlepšujú účinnosť absorpcie BBR. BBR a jeho metabolity zvyšujú endokrinnú funkciu črevnej flóry, aby ďalej regulovali mikroprostredie pečene a zmierňovali fibrózu.

① Butyrát zvýšil oxidáciu mastných kyselín aktiváciou PGC1 α , Pex11a, PPAR α a FGF21 sprostredkovaného PPAR α . (*Weng a kol., 2015 ; On a Moreau 2019*).

② AMPK-dependentná fosforylácia SREBP (*Li et al., 2011b*) a zvýšená expresia ATGL a fosforylácia HSL (*Jia et al., 2017*) tiež ponúkajú sľubnú cestu pre butyrát na zmiernenie steatózy pečene a depozície lipidov prostredníctvom rozpadu lipogenézy a lipogenézy .

③ Liečba butyrátom zjavne inhibovala metabolizmus kyseliny arachidónovej zmenou expsie metabolických enzýmov (COX, LOX) spolu so syntézou metabolitov kyseliny arachidónovej (PGE2). (*Ardaillou a kol., 1985 ; Kamitani a kol., 1998*).

④ Butyrátom sprostredkovaná remisia zápalu a ďalšie zmiernenie fibrózy pečene prostredníctvom podpory protizápalových cytokínov IL-4, IL-10 a inhibície zápalových génov TGF- β 1, IL-1 α , IL-17 α , TNF- α , F4/80. (*Ye a kol., 2018*).

Presluchy medzi žľčovou kyselinou a črevnou flórou

BBR tiež obnovuje homeostázu žľčových kyselín zacielením na viaceré dráhy, ktoré výrazne inhibujú zápal, čím zmierňujú nealkoholickú steatohepatitídu a fibrózu pečene. (*Wang a kol., 2021*). Žľčové kyseliny slúžia ako kľúčové regulátory homeostázy lipidov a glukózy, spotreby energie a zápalu. (*Juan a Bambha 2015*). Okrem toho, žľčové kyseliny zohrávajú rozhodujúcu úlohu v homeostáze črevnej flóry, ktorá môže následne regulovať veľkosť a zloženie zásoby žľčových kyselín, ktorá udržiava normálnu exkréciu žľčových kyselín a hepatoenterálnu cirkuláciu. (*Hofmann 1999 ; Ridlon et al., 2006 ; Rajilic-Stojanovic 2013*). Abnormálna biliárna sekrécia však vedie k deštrukcii mikroflorálnej štruktúry, čo nepriaznivo ovplyvňuje množstvo baktérií zodpovedných za katabolizmus žľčových kyselín, čo vedie k nesprávnemu vylučovaniu a reabsorpcii konjugovanej žľčovej kyseliny. (*Hedenborg a kol., 1991*). Jadrový receptor FXR a receptor bunkového povrchu Takeda G proteín-coupled receptor 5 (TGR5) môžu zmeniť metabolizmus sprostredkovaný žľčovými kyselinami väzbou na žľčové kyseliny. (*Pathak et al., 2018*). BBR je teda naďalej sledovaný ako potenciálny agonista FXR (*Sun et al., 2017*) a TGR5 (*Yang et al., 2016*) viazania žľčových kyselín, pretože to môže ponúknuť spôsoby, ako zvýšiť početnosť baktérií, ktoré podporujú rozklad konjugovaných žľčových kyselín a regulujú signalizáciu žľčových kyselín. Okrem toho BBR významne zvyšuje množstvo črevných Firmicutes, najmä *Clostridium scindens*, ktoré primárne udržiava metabolizmus a hepatoenterálnu cirkuláciu žľčových kyselín. (*Gu a kol., 2015*). Štúdie odhalili, že funkcia BBR modifikujúca lipidy sa môže dosiahnuť moduláciou metabolizmu žľčových kyselín (*Sun a kol., 2017 ; Meng a kol., 2018*), keďže BBR reguluje črevnú flóru. (*Gu a kol., 2015*). Presluchy medzi metabolizmom žľčových kyselín a črevnou flórou by teda mohli ovplyvniť absorpčnú účinnosť BBR, čo by sa mohlo využiť pri liečbe cirhózy.

Berberine zvyšuje endokrinnú funkciu črevnej flóry, aby ďalej regulovala mikroprostredie pečene a zmierňovala fibrózu

Berberín zvyšuje výťažok butyrátu odvodeného od črevnej flóry

Ako už bolo spomenuté, BBR je sľubným kandidátom na liečbu metabolických ochorení zlepšením porúch črevnej flóry. (*Xu X. et al., 2021*). V súčasnosti sa predpokladá, že mikroflóra funguje ako virtuálny „endokrinný orgán“ (*Clarke et al., 2014*), ktorý vytvára širokú škálu produktov na reguláciu metabolizmu hostiteľa prostredníctvom homológnych receptorov. Mastné kyseliny s krátkym reťazcom (SCFA), najmä butyrát, acetát a propionát, ktoré sú konečnými produktmi fermentácie nestráviteľných uhl'ohydrátov anaeróbnymi mikróbmi, majú výrazný vplyv na funkciu čriev a energetický metabolizmus hostiteľa. (*Nicholson a kol., 2012*). Regulácia lipidových profilov pomocou BBR sa realizuje nielen prostredníctvom jej priamych účinkov na koncentrácie lipidov v krvi, ale aj prostredníctvom podpory tvorby SCFA (hlavne butyrátu) na nepriame ovplyvnenie koncentrácií lipidov v krvi. (*Wang a kol., 2017a*). Zhang a kol. dokázali to tým, že preukázali, že koncentrácie SCFA v čreve sa liečbou BBR zvýšili, čo zlepšilo odolnosť voči metabolickým ochoreniam. (*Zhang a kol., 2012*). Tiež sa uvádza, že liečba BBR vedie k zvýšeniu množstva črevnej flóry, ktorá vylučuje SCFA a udržiava zdravie hostiteľa (*Zhang et al., 2015*), najmä *Clostridia* . (*Gu a kol., 2015 ; Byndloss a kol., 2017 ; Cui a kol., 2018*).

Účinky butyrátu na metabolizmus lipidov

Kyselina 4-fenylmaslová (PBA), bioaktívny butyrátový derivát s dlhým polčasom rozpadu, znižuje ER stres a downreguluje transkripciu mnohých SREBP1-dependentných lipogénnych génov, čo nakoniec vedie k inhibícii biosyntézy mastných kyselín. (*Ren a kol., 2013*). Butyrát však tiež zvyšuje oxidáciu mastných kyselín tým, že aktivuje peroxizómovým proliferátorom aktivovaný receptor- γ koaktivátor 1- α , faktor peroxizómálnej biogenézy 11 α , PPAR α a PPAR α -sprostredkovaný fibroblastový rastový faktor 21. (*Weng et al., 2015 ; He a Moreau 201*). Okrem toho fosforylácia a inaktivácia ACC1 sprostredkovaná butyrátom nielen inhibuje syntézu mastných kyselín, ale tiež podporuje oxidáciu mastných kyselín zmiernením supresie karnitín palmitoyltransferázy IA indukovanej malonylom CoA. (*McGarry a kol., 1977 ; Hillgartner a kol., 1995 ; Heimann a kol., 2015*). Okrem toho, AMPK-dependentná fosforylácia SREBP, (*Li et al., 2011b*), zvýšenie expresie tukovej triglyceridovej lipázy a fosforylácia hormonálne citlivej lipázy (*Jia et al., 2017*) sú cesty, ktorými môže butyrát zmierniť steatózu pečene a ukladanie lipidov inhibíciou lipogenézy a podporou lipolýzy. Najmä liečba butyrátom inhibuje metabolizmus kyseliny arachidónovej a tým potláča zápal, zatiaľ čo zníženie koncentrácií butyrátu zhoršuje NASH prostredníctvom prehnanej zápalovej reakcie vyvolanej kyselinou arachidónovou. (*Zhuang a kol., 2017 ; Ye a kol., 2018*). Okrem toho podávanie butyrátu mení expresiu metabolických enzýmov (napr. COX a LOX) a tým ovplyvňuje biosyntézu metabolitov kyseliny arachidónovej (napr. PGE2). (*Ardailou a kol., 1985 ; Kamitani a kol., 1998*).

Bolo tiež hlásené, že butyrát zlepšuje zhoršenú funkciu pečene a zmierňuje progresiu fibrózy, ktorá má ochranný účinok pri NASH prostredníctvom regulácie metabolizmu kyseliny arachidónovej. (*Ye a kol., 2018*). Na rozdiel od toho ďalšia štúdia zistila, že SCFA nepriaznivo ovplyvňujú metabolizmus lipidov: Yu et al. ukázali, že SCFA, vrátane butyrátu, zhoršujú akumuláciu lipidov v bunkách 3T3-L1 (typ adipocytov) podporovaním expresie lipogénnych génov a proteínov. (*Yu a kol., 2018*). Celkovo sa zdá, že butyrát znižuje zápal a

zlepšuje metabolizmus lipidov v pečeni, ale sú potrebné ďalšie štúdie, aby sa úplne charakterizoval spôsob jeho účinku.

Účinky butyrátu na zápalové/imunitné reakcie

Výskum ukázal, že butyrát pôsobí ako inhibítor históndeacetylázy alebo pôsobí na signálne receptory na potlačenie zápalu a tým oddialenie rozvoja ochorenia pečene. (*Le Poul a kol., 2003 ; Donohoe a kol., 2012 ; Gill a kol., 2018*). Butyrát znižuje zápal a zmiernuje ďalšiu fibrózu pečene podporou produkcie protizápalových cytokínov interleukínu 4 (IL-4) a IL-10 a inhibíciou expresie génov kódujúcich zápalové molekuly transformujúce rastový faktor β 1, interleukín 1 α (IL-1 α), IL-17a, tumor nekrotizujúci faktor α a F4/80. (*Ye a kol., 2018*). Butyrát tiež potláča fosforyláciu MAPK, aktiváciu NF- κ B a expresiu downstream zápalovej signalizácie, čím inhibuje zápalové reakcie. (*Ohira a kol., 2013*). Yukihiro a kol. študovali dôležitú vzájomnú interakciu medzi imunitou a zápalom a odhalili, že butyrát odvodený od mikrobioty reguluje transkripciu génu P3 proteínu forkhead box, ktorý pozitívne koreluje s koncentraciami SCFA a počtom regulačných T buniek. To viedlo k inhibícii zápalových reakcií a zlepšilo sa vývoj kolitídy u myši s abnormálnymi T-bunkami. (*Furusawa a kol., 2013*). Celkovo vyššie uvedené zistenia naznačujú, že nadmerný zápal a imunitná dysregulácia sú vo veľkej miere zodpovedné za poruchy v mikroprostredí pečene, ktoré vedú k fibróze pečene. Okrem toho, pozitívne účinky butyrátu na zápalové a imunitné reakcie poskytujú spoľahlivý teoretický základ pre účinky BBR pri liečbe cirhózy pečene.

Účinky butyrátu na fibrózu pečene

Výskumníci stále viac skúmajú schopnosť butyrátu odvodeného z črevných baktérií zmierniť fibrózu pečene. Napríklad sa zistilo, že progresia fibrózy u myši NASH indukovaných diétou s deficitom metionínu a cholínu je podstatne spomalená liečbou butyrátom, čo dokazuje významná downregulácia skorých markerov fibrózy transformujúcich rastový faktor- β 1, α -aktín a α hladkého svalstva. -aktín 2. (*Ye et al., 2018*). Účinky butyrátu na črevnú flóru, metabolizmus lipidov a zápal boli navrhnuté ako základ jeho účinkov u týchto myši. (*Ye a kol., 2018*). Okrem toho butyrát bráni progresii NASH do fibrózy reguláciou metabolizmu kyseliny arachidónovej. (*Ye a kol., 2018*). Tieto výsledky naznačili, že butyrát môže znížiť fibrózu pečene, ale mechanizmus toho ešte musí byť úplne objasnený.

Vyvážené pečňové mikroprostredie je základom pre udržanie normálnych fyziologických funkcií a nevyvážené pečňové mikroprostredie má za následok metabolické abnormality, zápalovú aktiváciu a poruchy imunitného systému. Butyrát produkovaný črevnými baktériami sa absorbuje cez črevnú sliznicu a potom sa primárne distribuuje do pečene cez portálne žily, kde zlepšuje mikroprostredie pečene prostredníctvom mechanizmov súvisiacich s aktiváciou PPARy. (*Byndloss a kol., 2017 ; Ye a kol., 2018*). Metabolizmus lipidov a jeho interakcie so zápalom a imunitou môžu teda zodpovedať za účinky liečby butyrátom a tiež vytvárať spojenie medzi BBR a cirhózou. To naznačuje možnosť interaktívnej siete BBR – črevná flóra – butyrát – metabolizmus lipidov – fibróza pečene.

Záver, perspektívy a budúce smerovanie

BBR je prírodný produkt s mnohými užitočnými biologickými účinkami a málo nepriaznivými účinkami. Obzvlášť pôsobivé sú jeho účinky na zápalové a metabolické poruchy. Bolo potvrdené, že BBR znižuje fibrózu pečene prostredníctvom viacerých biochemických mechanizmov, ako je napríklad regulácia oxidačného stresu, stresu ER a aktivity AMPK, NF-KB a PPAR γ). Komplexné mechanizmy pôsobenia BBR však ešte nie sú úplne pochopené. Skoré štúdie o BBR zdôraznili jeho priaznivé účinky na lipidové profily a interakcie so zápalovými imunitnými odpoveďami. Z tohto prehľadu sme dospeli k záveru, že BBR môže uplatniť svoje účinky prostredníctvom regulácie enzýmov zapojených do metabolizmu kyseliny arachidónovej a následných zápalových dráh. Toto sa však ešte musí potvrdiť na modeloch cirhózy a sú potrebné ďalšie štúdie.

Zlá orálna biologická dostupnosť BBR je hlavnou prekážkou jeho klinickej aplikácie. Našťastie črevná flóra obsahujúca nitroreduktázu alebo špecifické črevné mikroorganizmy dokážu premeniť BBR na dhBBR, OBB, canadine a iné deriváty, ktoré sú oveľa rozpustnejšie a majú lepšiu účinnosť ako BBR. Tieto deriváty majú tiež vynikajúce protizápalové, antioxidantné a antifibrózne funkcie a ukázalo sa, že metabolizmus žlčových kyselín zvyšuje ich tvorbu prostredníctvom presluchu s črevnou flórou. BBR zvyšuje produkciu butyrátu anaeróbnymi baktériami a výsledné vyššie koncentrácie butyrátu v obehu vedú k zlepšeniu metabolizmu hostiteľa, zníženiu zápalu, zvýšeniu imunity a zníženiu fibrózy pečene. Mechanizmus, ktorým BBR podporuje metabolity črevnej flóry na ďalšie zlepšenie fibrózy pečene reguláciou mikroprostredia pečene, zostáva do značnej miery nepolapiteľný.

Okrem asociačných štúdií by budúci výskum mal vyvinúť hlbšie pochopenie úloh črevnej flóry, dráh kyseliny arachidónovej a následných cieľov (napr. PPAR γ) pri fibróze pečene. Na overenie biologických funkcií BBR pri cirhóze sú potrebné aj rozsiahle a multicentrické klinické štúdie. Okrem toho sa musí brať do úvahy bezpečnosť, optimálna dávka a liekové interakcie BBR. Biologická dostupnosť BBR sa musí ďalej zlepšovať farmaceutickými technikami alebo prístupmi medicínskej chémie a stanovením presného mechanizmu interakcií liečivo-hostiteľ.

Tento prehľad sumarizuje súčasné poznatky o úlohe BBR pri fibróze pečene z hľadiska jeho účinkov na metabolizmus lipidov a črevnú flóru. Dúfame, že to podporí budúce štúdie o BBR a povedie k vývoju nových stratégií na použitie BBR pri liečbe cirhózy, vzhľadom na pozitívne účinky BBR na fibrózu pečene. V konečnom dôsledku to môže priniesť personalizované prístupy založené na BBR na liečbu fibrózy pečene, ktoré sú prispôbené jedinečnému profilu črevnej mikrobioty pacienta.

Zdroj: Xianzhi Liu, Lifu Wang, Siwei Tan, Zebin Chen, Bin Wu, Xiaoying Wu, *Therapeutic Effects of Berberine on Liver Fibrosis are associated With Lipid Metabolism and Intestinal Flora*

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2022.814871/full>