

Metabolizmus metionínu pri chronických ochoreniach pečene: aktualizácia molekulárneho mechanizmu a terapeutického významu

Metabolizmus metionínu ako jedna z bicyklických metabolických dráh jednouchlíkového metabolizmu je kľúčom spájajúcim folátový cyklus s transsulfuračnou dráhou. Okrem toho, že sú prekursorom pre syntézu glutatiónu a hlavným donorom metylu pre metyláciu nukleových kyselín, fosfolipidov, histónov, biogénnych amínov a proteínov, môžu sa metabolity metionínu podieľať na syntéze polyamínov. Porucha metabolizmu metionínu môže zhoršiť poškodenie v patologickom stave choroby. Pri výskyte a rozvoji **chronických ochorení pečene (CLD)** môžu zmeny rôznych zložiek podieľajúcich sa na metabolizme metionínu rôznymi mechanizmami ovplyvniť patologický stav. Na zostavovanie modelov CLD sa bežne používa strava s nedostatkom metionínu. Konverzia kľúčových enzýmov metabolizmu metionínu metionín adenozytransferáza (MAT) 1A a MAT2A/MAT2B úzko súvisí s fibrózou a hepatocelulárnym karcinómom.

Experimenty in vivo a in vitro ukázali, že zásahom príbuzných enzýmov alebo následných metabolitov do metabolizmu metionínu by sa mohlo znížiť poškodenie pečene. Suplementácia metionínu v poslednej dobe postupne priťahuje pozornosť mnohých klinických výskumníkov. Väčšina výskumníkov súhlasí s tým, že adekvátna suplementácia metionínu môže pomôcť znížiť poškodenie pečene. Retrospektívna analýza nedávno vykonaných relevantných štúdií má hlboký význam. Tento článok poskytuje prehľad o najnovších úspechoch súvisiacich s metabolizmom metionínu a CLD, od molekulárnych mechanizmov až po klinický výskum, a poskytuje niekoľko pohľadov na budúce smerovanie základného a klinického výskumu.

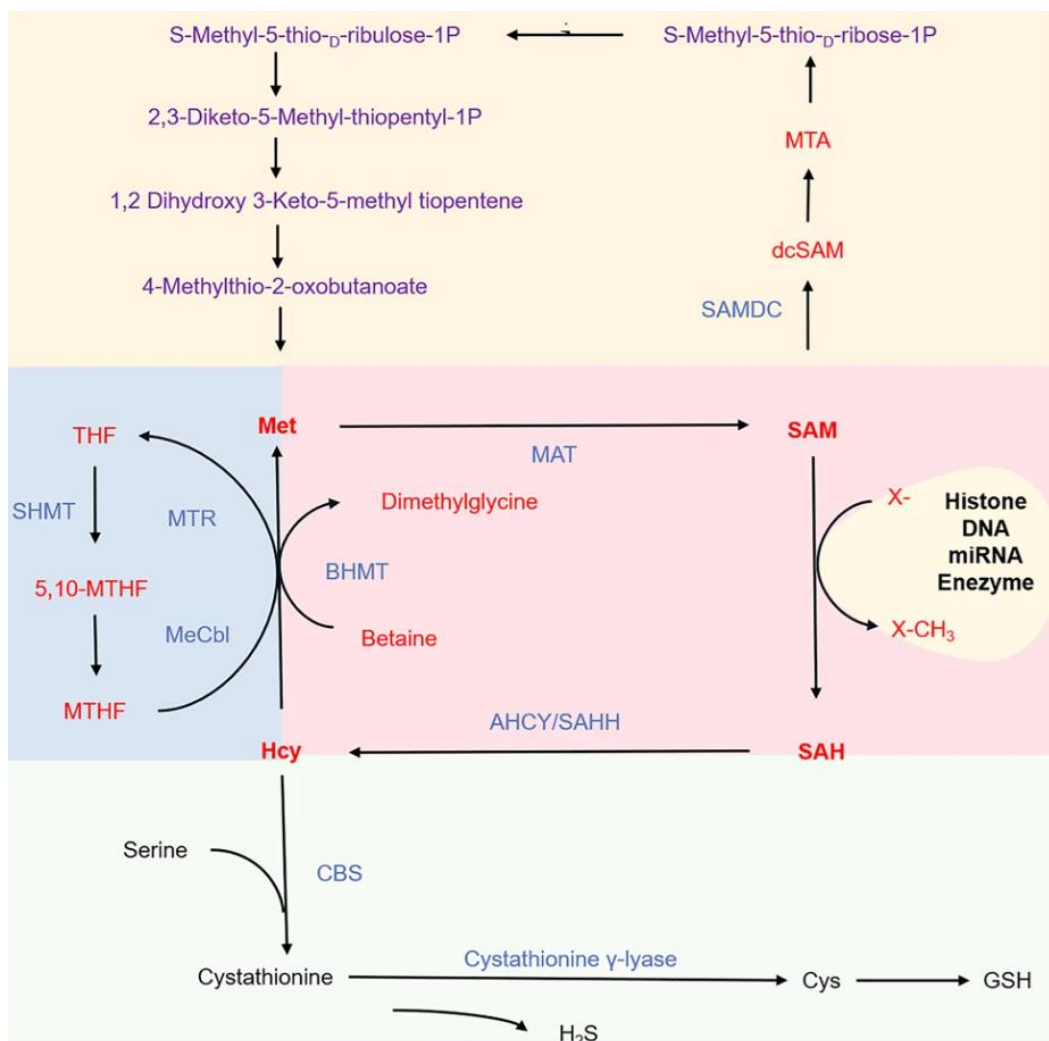
Úvod

Chronické ochorenie pečene (CLD) predstavuje významný problém verejného zdravia na celom svete. Príčinou chronického poškodenia pečene sú vírusy, metabolická dysfunkcia, autoimunitné ochorenia a alkoholizmus, ktoré takmer spôsobujú fibrózu pečene. Okrem toho je CLD zavedený rizikový faktor pre hepatocelulárny karcinóm (HCC). Metabolické poruchy charakterizujú väčšinu ochorení pečene. Pacienti s CLD majú často zmeny v metabolizme glukózy, stopových prvkov, lipidov, a proteínov. Vplyvom ochorení pečene na metabolizmus aminokyselín (AA) sa venuje veľká pozornosť. U pacientov s cirhózou boli pozorované abnormálne vysoké koncentrácie cysteínu, metionínu a aromatických AA. Sérové hladiny AA s rozvetveným reťazcom sa u pacientov s CLD znížili. *Nutričná terapia sa používa na kontrolu a riadenie metabolizmu pečene, čo môže zlepšiť funkciu pečene a mať pozitívny vplyv na ochorenia pečene.* Lepšie pochopenie metabolizmu živín, v ktorom metabolizmus metionínu hrá dôležitú úlohu, by mohlo pomôcť identifikovať nové terapeutické ciele na prevenciu CLD.

Metionín, esenciálny proteogénny AA, je nevyhnutný pre priemerný rast a vývoj, a rozklad metionínu v tenkom čreve vytvára voľný metionín. Následne sa voľný metionín absorbuje a použije na syntézu bielkovín alebo sa premení na S-adenosylmetionín (SAM/AdoMet). SAM pôsobí ako hlavný donor metylovej a sulfátovej skupiny v mnohých biochemických reakciách a odporúča sa na liečbu určitých chorôb. Syntéza SAM je pri CLD potlačená, preto sa značný záujem sústredil na využitie SAM na zníženie závažnosti ochorenia. Klinický výskum suplementácie metionínu však zostáva nedostatočný a výsledky sú kontroverzné. Tu ponúkame hĺbkový prehľad najnovších úspechov súvisiacich s fyziologickými a patofyziologickými úlohami metabolizmu metionínu pri ochoreniach pečene, od molekulárnych mechanizmov až po klinický výskum.

Fyziologická úloha metabolizmu metionínu

Metabolizmus metionínu možno rozdeliť na metionínový cyklus, transsulfuračný proces a záchranný cyklus. (obrázok č.1). Po prvé, metionín adenozytransferázy (MAT) katalyzujú biosyntézu SAM z metionínu a ATP. Za katalýzy metyltransferáz (MTs), SAM daruje svoju metylovú skupinu na metyláciu a premení sa na S-adenosyl-homocystein (SAH). SAH sa potom konvertuje S-adenosyl-homocystein hydrolázou (SAHH/AHCY) na homocystein (Hcy). Hcy podporuje syntézu glutatiónu (GSH) vstupom do transsulfuračnej dráhy alebo sa premieňa späť na metionín metionínsyntázou (MTR/MS), čím sa dokončuje metionínový cyklus. MTR vyžaduje metylovanú formu vitamínu B12 (kobalamín) a používa 5-metyltetrahydrofolát ako donor metylu na katalýzu Hcy remetylácie. Paralelne s týmto procesom môže betaín homocystein metyltransferáza (BHMT) katalyzovať tvorbu SAM z betaínu, ktorý je donorom metylu. V transsulfuračnej dráhe katalyzuje cystationín- β -syntáza (CBS) syntézu cystationínu prostredníctvom kondenzácie Hcy a serínu. Potom cystationín- γ -lyáza hydrolyzuje cystationín za vzniku cysteínu pre syntézu GSH. Okrem toho cystationín- γ -lyáza a CBS katalyzujú produkciu sírovodíka v týchto procesoch. Metionín možno získať aj z metyltioadenozínu (MTA), vedľajšieho produktu biosyntézy polyamínu (PA), cestou záchrany metionínu. Okrem toho je SAM dekarboxylovaný dekarboxylázou AdoMet za vzniku dekarboxylovaného SAM (dcSAM). Po darovaní aminopropylvej skupiny na syntézu PA sa dcSAM transformuje na MTA, ktorý sa potom prevedie späť na metionín prostredníctvom šiestich enzymatických krokov.

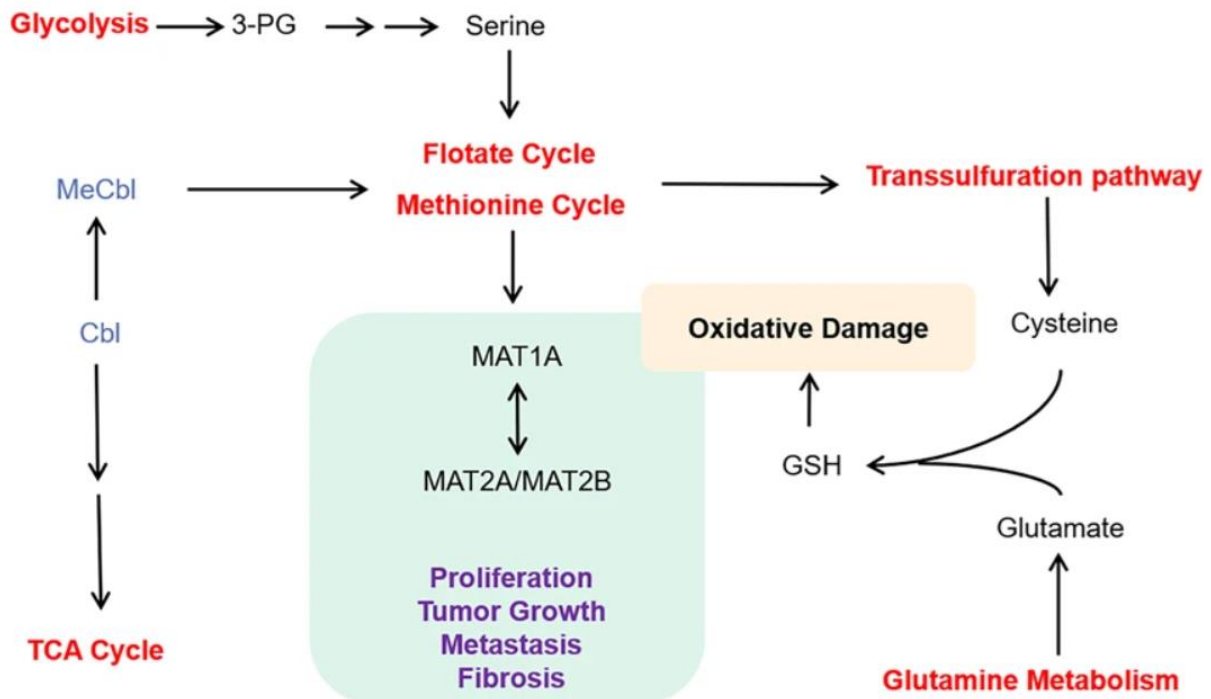


Odozva metabolizmu metionínu v pečeni. V tejto dráhe sú štyria hlavní účastníci, a to metionín, S-adenosylmetionín (SAM), S-adenosyl homocysteín (SAH) a homocysteín (Hcy). Metionín adenozyltransferáza (MAT) konvertuje metionín na SAM a potom používa metylový donor katalyzovaný metylovým donorom. Ďalším produktom týchto reakcií je SAH, ktorý je redukovaný S-adenozín homocysteín proteázou (AHCY/SAHH) na adenzín a Hcy. Metabolizmus metionínu zahŕňa folátový cyklus, transsulfuračnú dráhu a záchranú dráhu. AHCY adenosylhomocysteínáza, BHMT betáin homocysteín metyltransferáza; GSH glutatión; Hcy homocysteín, SAM S-adenosylmetionín, SAH S-adenosyl homocysteín, Met metionín, MTs metyltransferáza, CBS cystationín- β -syntáza, Cbl kobalamín, vitamín B12, MeCbl metylkobalamín, MTA 5'-metyldtioadenozín-dekarbonáza, SAMtetrahydro SHMT serínhydroxymetyltransferáza.

SAM je hlavným donorom metylu na metyláciu fosfolipidov, nukleových kyselín a biogénnych amínov. Je to tiež druhý najbežnejší enzymatický kofaktor po ATP. Koncentrácia metionínu úzko súvisí s pomerom SAM k SAH, ktorý ovplyvňuje mnohé metylačné reakcie, vrátane metylácie histónov. Zmeny v stave metylácie prispievajú k mnohým patofyziologickým stavom, vrátane rakoviny, obezity a starnutia. Metionín patrí medzi hlavné ciele reaktívnych foriem kyslíka (ROS). koncentrácia metionínu môže tiež viesť k bunkovým morfológickým zmenám a bunkovej proliferácii. Nesprávne nastavenie metabolizmu metionínu, ktorý hrá kľúčovú úlohu v bunkovej fyziológii, sa vyskytuje pri rôznych ochoreniach. Pečeňové lézie úzko súvisia s hlbokými zmenami v metabolizme metionínu. Copeland a kol. prvýkrát spojili zmeny metionínového cyklu a poškodenie pečene. Systematický prehľad uvádza, že SAM zlepšuje niektoré biochemické parametre pečene a symptómy u pacientov s intrahepatálnou cholestázou, čo je znakom niekoľkých CLD. Okrem toho sa v posledných rokoch ukázalo, že modifikácie N^6 -metyladenzínu (m^6A) súvisia s poranieniami pečene. Deregulácia m^6A regulátorov v hostiteľských hepatocytoch môže prispieť k rozvoju vírusovej hepatitídy. Metabolizmus metionínu úzko súvisí s metyláciou m^6A . Štúdia odhalila mechanizmus homeostatickej regulácie syntézy SAM v cicavčích bunkách, ktorý zahŕňa dynamické modifikácie m^6A v MAT2A 3' UTR. vyčerpaní metionínu sa rýchlo indukuje zostrih MAT2A-zadržaného intrónu.

Metabolizmus metionínu úzko súvisí s rôznymi metabolickými cestami (obr. č.2). Folátový cyklus spojený s metionínovým cyklom predstavuje metabolickú dráhu s dvojitým kruhom. Všetky takéto bicyklické dráhy sa súhrnne označujú ako metabolizmus jedného uhlíka. Metabolizmus metionínu je kľúčom spájajúcim folátový cyklus s transsulfuračnou dráhou. Medziprodukt Hcy, čo je síru obsahujúca, neproteínová, toxická AA, spája transsulfuračnú dráhu s metionínovým cyklom. Klírens Hcy je nevyhnutný pre genetickú ochranu. Ako prvý enzým v transsulfuračnej dráhe má CBS regulačné miesto SAM a mutácia v tomto mieste vedie k homocystinúrii, ktorá je úzko spojená s rakovinou. Syntéza GSH tiež spája transsulfuračnú dráhu s metabolizmom glutamínu, ktorý je upregulovaný mnohými onkogénnymi poškodeniami a mutáciami. Gén pre 5-metyltioadenozín fosforylázu (MTAP), kľúčový enzým metionínovej záchrannej dráhy, je pri ľudských rakovinách často deletovaný. Inhibícia proteín arginín N-metyltransferázy 5 (PRMT5) sa nedávno objavila ako potenciálna terapia proti rakovine s deficitom MTAP. MTA inhibuje PRMT5 kompetíciou so SAM o väzbu na katalytické miesto. Reštrikcia metionínu (MR) je dostatočná na elimináciu akumulácie MTA na úrovne zistené v bunkách exprimujúcich MTAP. Okrem toho metabolizmus metionínu úzko súvisí s metabolizmom PA. Zvýšené hladiny PA spôsobené aktiváciou ornitindekarboxylázy (ODC) môžu viesť k prozápalovým alebo protizápalovým

úlohám PA. Metabolizmus metionínu teda hrá dôležitú úlohu v rôznych biologických metabolizmoch.



Krížový rozhovor medzi metabolizmom metionínu a iným metabolizmom. Glykolýza produkuje ATP a 3-fosfoglycerát (3-PG), ktoré sa používajú pri syntéze serínu a folátovom cykle. ATP možno použiť na transformáciu metionínu na SAM. Kobalamín (Cbl) úzko súvisí s TCA, zatiaľ čo metylkobalamín (MeCbl) súvisí s folátovým cyklom a metionínovým cyklom. Kyselina glutámová produkovaná metabolizmom glutamínu sa môže použiť pri syntéze GSH. 3-PG 3-fosfoglycerát, Cbl kobalamín, vitamín B12, MeCbl metylkobalamín, cyklus TCA trikarboxylových kyselín.

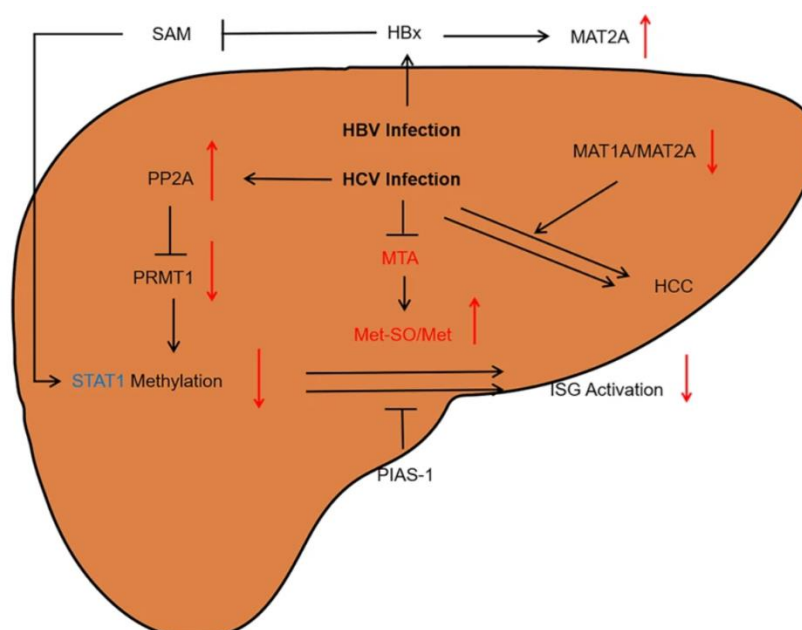
Metabolizmus metionínu a CLD

Úloha metabolizmu metionínu pri vírusovej hepatitíde

Vírus hepatitídy B (HBV) a vírus hepatitídy C (HCV) spôsobujú chronické poškodenie pečene. Výrazné etnické rozdiely sú pozorované v miere vírusových infekcií. HCV infekcia môže downregulovať proteín arginín N-metyltransferázu 1 (PRMT1) prostredníctvom proteínovej fosfatázy 2A (PP2A), zatiaľ čo PRMT1 môže katalyzovať metyláciu STAT-1 na Arg 31. STAT-1 je transkripčný faktor, ktorý sa podieľa na odozvách a odozvách vírusovej signalizácie k aktivácii signalizácie interferónom (IFN). Duong a kol. demonštrovali, že downregulácia IFN-senzitívnej génovej expresie interferenciou s metyláciou STAT-1 môže podporovať interakciu s proteínovým inhibítorom aktivovaných STAT (PIAS). Po podaní SAM sa antivírusový účinok IFN zvýšil. Feld a kol. tiež ukázali, že pridanie SAM k peginterferónu (PEG-IFN) a ribavirínu zlepšuje kinetiku skoršej antivírusovej odpovede. Sonia Amelia Lozano-Sepulveda a kol. navrhol, že SAM môže znížiť expresiu HCV v bunkách čiastočne moduláciou antioxidantných enzýmov, syntetizáciou GSH a prepnutím obratu MAT1A/MAT2A. Pomer MAT1A/MAT2A je relevantný pre prežívanie pacientov s HCC. Táto transformácia môže viesť k prechodu vírusovej hepatitídy na rakovinu

pečene. SAM dokáže vyrovnať pomer MAT1A/MAT2A, čo môže znížiť alebo dokonca zabrániť ďalšiemu rozvoju ochorenia. Okrem toho v štúdií HCV zahŕňajúcej podávanie etanolu liečba betaínom zmiernila poškodenie spôsobené metabolizmom etanolu na metyláciu STAT-1. V randomizovanej kontrolovanej štúdií fázy II však SAM neznížil poškodenie pečene u pacientov s cirhózou HCV, ani nezlepšil funkciu pečene. Vzhľadom na farmakokinetiku SAM môže vysoká chemická reaktivita metylovej skupiny SAM a jej spontánny rozklad viesť k nežiaducim účinkom. Preto je potrebné v ďalších štúdiách preskúmať účinnosť a bezpečnosť SAM proti HCV.

Súčasná terapia chronickej hepatitídy B (CHB) používa hlavne PEG-IFN a perorálne podávané nukleotidové analógy. Ukladanie H3K4me3 na HBV-DNA bolo znížené vo vzorkách HBV v počiatočnom štádiu negatívneho na antigén od pacientov s CHB, čo korelovalo s hladinami vírusových transkriptov, zatiaľ čo podpis H3K4me3 je modulovaný v reakcii na zníženie hladín SAM a SAH. Liu a kol. preukázali, že proteín X HBV zvyšuje väzbu transkripčných faktorov NF- κ B a proteínu viažuceho prvok odpovedajúceho na cAMP na promótor génu *MAT2A*, a tak reguluje jeho expresiu, ktorá je nevyhnutná pri progresii HCC sprostredkovanou HBV. Guo a kol. ukázali, že koncentrácie SAM súvisia so závažnosťou ochorenia pečene súvisiaceho s HBV. HBV dramaticky inhiboval metyláciu STAT-1. V kombinácii s IFN- α liečba SAM účinne zlepšila metyláciu STAT-1 a zoslabila väzbu STAT-1 - PIAS1. Pri stanovení praktickej liečby chronickej infekcie HBV sa potvrdil význam T buniek. Sinclair a kol. ukázali, že na to, aby T bunky zostali aktívované, je potrebný stály prísun metionínu a aktivácia T buniek zvyšuje dopyt po metioníne. Bing a kol. zistili, že kombinovaná terapia glukokortikoidmi, SAM a IFN- α je možno užitočná pre pacientov s CHB. Metylácia CpG HBV je úzko spojená s hepatokarcinogenezou. Metylácia DNA tiež hrá hlavnú úlohu pri umlčaní nádorových supresorov u pacientov infikovaných HCV s HCC. Medzi vzorkami HBV a HCV, čo sa týka hladín expresie aj metylácie, výskumníci zistili, že najväčšie rozdiely sú tri gény: ľudský leukocytový antigén, STAT-1 a 2'5'oligoadenylátsyntetáza 2. Hĺbková štúdia rozdielu metylácie gény pomôžu objasniť rôzne mechanizmy patogenézy HBV a HCV a budú ďalej prínosom pre antivírusové terapie. Vzhľadom na dôležitú úlohu metionínového cyklu pri metylácii si vzťah medzi metionínovým cyklom a HBV a HCV na molekulárnej úrovni vyžaduje ďalšie skúmanie (obr. 3). Úloha metabolizmu metionínu pri vírusovej invázii si vyžaduje ďalší výskum.



Metabolizmus metionínu pri vírusových infekciách hepatitídy B a C. Pri vírusovej infekcii je narušená syntéza pečevných polyamínov a aktivity transsulfuračnej dráhy. Metyltioadenozín (MTA) je adenínový nukleozid obsahujúci síru produkovaný zo SAM počas syntézy polyamínov, vrátane sperminu a spermidínu. Hladina MTA významne klesá počas neskorého štádia HCV infekcie v bunkách. Okrem toho je Met obzvlášť citlivý na zvýšené hladiny ROS. Po reakcii na ROS sa na proteín viazaný Met ľahko oxiduje za vzniku metionínsulfoxidu (Met-SO). Zvýšená hladina Met-SO a pomer Met-SO/Met naznačujú zvýšený oxidačný stres po znížení funkcie pečene. Okrem toho gény STAT-1 vykazovali významný rozdiel medzi HBV a HCV. Met metionín, Met-SO metionín sulfoxid, HBx proteín X HBV, ISG interferónom stimulovaný gén, PP2A proteín fosfatáza 2A, PRMT1 proteín arginín metyltransferáza 1, inhibítor proteínu PIAS aktivovaných STAT.

Úloha metabolizmu metionínu pri alkoholickom ochorení pečene

Dlhodobá expozícia etanolu spôsobuje trvalé a viditeľné poškodenie pečene, od steatózy cez alkoholickú steatohepatitídu až po fibrózu, dokonca aj cirhózu. Zmena metabolizmu metionínu hrá zásadnú úlohu vo vývoji alkoholického poškodenia pečene. Dlhodobá konzumácia etanolu má za následok zvýšenie hladín Hcy a SAH. Zvýšenie hladín SAH je dostatočné na senzibilizáciu pečene a hepatocytov na cytotoxicitu faktora nekrózy nádorov (TNF). Rozvoj steatózy a inhibícia proteazómovej aktivity, oba charakteristické znaky poškodenia pečene vyvolaného alkoholom, sa vyskytujú v dôsledku zníženého pomeru SAM/SAH. Znížený pomer SAM/SAH priamo ovplyvňuje úroveň metylácie. Etanol zasahuje do funkcie viacerých enzýmov vrátane MAT, BHMT a rôznych MT. Zníženú aktivitu MAT možno pripísať oxidačnému stresu vyvolanému alkoholom a reaktívnym aldehydom, ktoré môžu inaktivovať pečevno špecifický MAT. Nedostatok metabolických produktov v dôsledku narušeného metabolizmu metionínu inhibuje remetyláciu Hcy, formy GSH, čím sa oslabuje obranyschopnosť proti oxidačnému stresu. Zvýšenie hladín SAH a hypometylácia môžu vážne ovplyvniť expresiu/aktivitu kaspázy-8, čo koreluje so zvýšenou apoptózou alkoholického ochorenia pečene (ALD). Okrem toho jedinci s alkoholickou hepatitídou majú znížené hladiny MAT α 1, ktorý priamo interaguje s CYP2E1 a uľahčuje metyláciu CYP2E1 na kritickom arginínovom zvyšku. Okrem toho SAM môže podieľať na syntéze lipidov prostredníctvom dráhy fosfatidyletanolamín N-metyltransferázy, ktorá je nevyhnutná pre tvorbu lipoproteínov s veľmi nízkou hustotou (VLDL). Nedostatok metylácie fosfatidyletanolamínu (PE) vedie k akumulácii SAM, čo vedie k hypermetylácii histónov a hlavnej fosfatázy PP2A, závislosti na cysteíne a citlivosti na oxidačný stres.

Aktiváciou dráhy Nrf2-ARE podporuje dostupnosť metionínu endogénne antioxidantné reakcie a hrá kľúčovú úlohu pri inhibícii oxidačného stresu vyvolaného ROS. V rôznych experimentálnych modeloch ochorenia pečene SAM aj betaín zmierňovali poškodenie pečene vyvolané etanolom. Suplementácia SAM zvráti depléciu SAM a GSH u zvierat kŕmených etanolom a obnoví tekutosť mitochondriálnej vnútornej membrány. Okrem toho zmierňuje steatózu a nekrózu hepatocytov. Výrazným vplyvom suplementácie SAM je prevencia poškodenia mitochondriálnej DNA a mitoribozómovej disociácie. SAM zmierňuje zranenia reguláciou metabolizmu prospešných cytokínov. SAM tiež znižuje potenciálne toxické prozápalové cytokíny. Betaín ako taký priamo neinteraguje s oxidantmi. V metionínovom cykle sprostredkúva najmä syntézu SAM, a tak obnovuje pomer SAM/SAH a obnovuje metyláciu DNA a génovú expresiu. Betaín tiež zmierňuje akumuláciu voľných mastných kyselín (FFA) vyvolanú alkoholom tým, že upravuje alkoholom indukovanú nerovnováhu v syntéze a oxidácii mastných kyselín (FA) zacielením na proteín viažuci regulačný element v pečeni (SREBP)-1c, FA syntázu a peroxizóm proliferátorom aktivovaný receptor γ (PPAR γ) koaktivátor 1 α . SAM vykazuje priamu antioxidantnú aktivitu vychytávaním ROS. V

klinických štúdiách SAM zvyšuje hladiny bunkového antioxidantu GSH u pacientov s ALD a prežívanie pacientov s menej pokročilou cirhózou pečene sa pri SAM zlepšuje. Prednizolón plus SAM môže vyvolať zlepšenú terapeutickú odpoveď. Nesprávne nastavenie metabolizmu metionínu a SAM bolo v ALD dobre akceptované, zatiaľ čo účinok tohto nesprávneho nastavenia na následné produkty nebol úplne preskúmaný. Viaceré dôkazy spájajú abnormálny metabolizmus metionínu vyvolaný etanolom s nedostatkom folátu a vitamínu B6 a B12, ktoré sú kľúčovými faktormi v patogenéze ALD. Skúška liečby SAM pre ALD je nepresvedčivá. Sú potrebné rozsiahlejšie a dlhodobejšie klinické štúdie a u pacientov s ALD by sa mala zvážiť suplementácia ďalšími zlúčeninami dôležitými pre metabolizmus metionínu, ako je vitamín B6. Betaín by sa mal tiež skúmať ako doplnok vo veľkých klinických štúdiách.

Úloha metabolizmu metionínu pri nealkoholickom stukovatení pečene

Nealkoholické stukovatenie pečene (NAFLD) je výsledkom defektov viacerých metabolických dráh vedúcich k akumulácii triglyceridov (TG) v pečeni. NAFLD často progreduje do nealkoholickej steatohepatitídy (NASH), ktorá je výsledkom dlhotrvajúceho zápalu a poškodenia hepatocytov, čo v konečnom dôsledku spôsobuje fibrózu, HCC a dokonca smrť. Ľudský NASH je spojený s hypometyláciou pečenej DNA. Predchádzajúca štúdia ukázala nižšiu mieru transmetylácie metionínu u inzulín-rezistentných pacientov s NASH. Delécia génu alebo nedostatok nestabilných metylových skupín vo forme metionínu a cholínu podkopáva schopnosť syntetizovať SAM, čo vedie k rozvoju steatózy a jej rýchlemu postupu smerom k NASH. Liečba metionínovou a cholín-deficientnou diétou (MCD) je rutinná a užitočná metóda na vyvolanie NASH u hlodavcov. Nasýtené FFA sa hromadia u myši kŕmených MCD a môžu spôsobiť lipotoxicitu prostredníctvom aktivácie JNK1, čo vedie k poškodeniu mitochondrií a produkcii ROS. Pozoruhodné je, že myši MAT1A-KO vykazujú chronický nedostatok SAM v pečeni a spontánne sa u nich rozvinie steatohepatitída a HCC. Pečeň týchto myši má vysoké TG, diglyceridy, FA a ceramidy. Obsah CD36 sa výrazne zvyšuje u myši MAT1A - KO. Zvýšenie hladiny CD36 prispieva k ukladaniu TG v pečeni. Okrem toho sú hladiny Hcy, sprostredkovateľa v metabolizme metionínu v pečeni, u pacientov s NAFLD zvýšené. Zvýšené koncentrácie Hcy v sére súvisia s histologickou závažnosťou NAFLD. Vysoké hladiny Hcy v sére sú však negatívne spojené s NASH a významnou fibrózou u pacientov s NAFLD. Patofyziologické mechanizmy medzi Hcy a NAFLD sú multifaktoriálne a nie sú úplne pochopené.

SAM je kľúčovým donorom metylu pre syntézu fosfatidylcholínu (PC), ktorý je potrebný na export VLDL z pečene. Okrem svojej úlohy donoru metylu môže SAM pôsobiť aj ako metabolický regulátor, ktorý riadi procesy, ako je regenerácia, diferenciácia a citlivosť orgánov na rôzne poranenia. Mitochondriálna polarizácia bola obnovená v MAT1A-KO hepatocytoch po inkubácii so SAM. Pridanie metionínu do stravy s vysokým obsahom cholesterolu môže významne znížiť steatózu pečene (HS), oxidačný stres a fibrózu spôsobenú samotným vysokým obsahom cholínu. Avšak kvôli nedostatku včasnej diagnózy je uskutočnenie ľudského výskumu v počiatočnom štádiu NASH nemožné. Navyše Maria del Bas a kol. zistili, že nedostatok selénu a vitamínu E spolu spôsobuje zvýšenie SAM a potláča expresiu MYC v pečeni škrečkov na diéte s vysokým obsahom tukov, čo urýchlilo vývoj NASH u škrečkov. Preto za určitých okolností nemusí byť zvýšenie SAM v pečeni účinnou stratégiou. Podobne Yao a kol. ukázali, že nadbytok SAM je škodlivý. Diéta s vysokým obsahom metionínu (HMD) spôsobila hyperhomocysteinémiu (HHcy) a HS u myši. Súvislosť medzi HHcy a NAFLD bola dobre preskúmaná. Naopak, zníženie alebo obmedzenie príjmu metionínu má priaznivé účinky, ako je zvýšený výdaj energie, predĺženie života, zlepšenie citlivosti na inzulín a zníženie adipozity. Diétna MR môže podstatne znížiť cirkulujúce

hladiny metionínu u pacientov s deficitom SAHH. Gao a kol. ukázali, že diétna MR môže v klinických podmienkach rýchlo indukovať konkrétne metabolické profily. Podľa niektorých štúdií metionín vyvoláva hypercholesterolémiu uľahčením syntézy cholínu v pečeni. Napriek tomu sitagliptín v spojení s vysokocholeolínovou diétou zhoršuje oxidačné poškodenie, čo vedie k symptómom, ktoré sú podobné príznakom NASH, zatiaľ čo HMD čiastočne zmierňuje negatívne účinky. Preto je potrebné preskúmať, či pacienti s NAFLD potrebujú veľké množstvo doplnkov SAM. Okrem toho metionín a medzi produkty vznikajúce počas jeho metabolizmu môžu hrať samostatnú alebo synergickú úlohu, čím poskytujú hepatoprotektívne účinky; toto však treba ďalej skúmať.

Úloha metabolizmu metionínu pri fibróze a cirhóze pečene

Fibróza pečene je charakteristická pre takmer všetky CLD a zostáva kľúčovým determinantom klinickej prognózy. Pri CLD vedie nerovnováha medzi novým ukladaním extracelulárnej matrice a jej resorpciou k rozvoju fibrózy, čo naznačuje odpoveď pečene na opakované hojenie rán. Nakoniec to môže viesť k cirhóze. Fibrózu pečene možno považovať za obojsmerný dynamický vývoj a regresiu. Aktivované hepatické hviezdicové bunky (HSC) sa považujú za kľúčový faktor v patogenéze fibrózy. Na aktiváciu HSC sú potrebné dva MAT gény, MAT2A a MAT2B. Ramani a spol. zistili, že fosforylácia proteínov MATa2 a MATp je zvýšená počas aktivácie HSC. Stabilita týchto proteínov podporuje transdiferenciáciu ľudského HSC. MAT2B ovplyvňuje aktiváciu HSC prostredníctvom signalizačných mechanizmov ERK a PI-3K, zatiaľ čo MAT2A ovplyvňuje rast HSC ovplyvňovaním zmien hladín SAM. V kľudových HSC je PPAR γ negatívnym regulátorom MAT2A. Prechod z pokojového stavu do aktivačného stavu ruší túto kontrolu a umožňuje PPARp zvýšiť transkripciu MAT2A. Okrem toho, leptínom indukované viaceré signálne dráhy sprostredkovávajú aktiváciu HSC. MAT2B-KO úplne blokuje leptínom sprostredkovanú indukciu fosforylácie STAT3. Nedávna štúdia ukázala, že leptínom indukovaná β -katenínová signalizácia oslabuje väzbu E2F-4 na promótor MAT2A, čím zvyšuje jeho aktivitu. Aktivácia HSC spôsobuje pokles hladín SAM a MTA, zníženie pomeru SAM/SAH a celkovú hypometyláciu DNA. Pokles hladín SAM súvisí s nižšou aktivitou MAT II počas aktivácie.

Ramani a kol. odhalili, že mutácie vo fosforylačných miestach Y371/Y374 v MATa2 a T257/Y259 v MATp inhibujú aktiváciu HSC. Mutácia špecifických fosforylačných miest sa môže použiť ako stratégia na liečbu fibrózy a dokonca cirhózy pečene spôsobenej aktiváciou HSC. Predchádzajúca metaanalýza potvrdila ochranné účinky a bezpečnosť SAM pre CLD. Pokusy na zvieratách ukázali, že deplécia hladiny SAM súvisí s fibrózou pečene. V modeli etanol-LPS fibrotickej pečene potkanov pridanie SAM inhibuje oxidačný stres a aktiváciu HSC, čím významne znižuje poškodenie pečene a fibrózu. Farmakologické dávky SAM a MTA môžu znížiť expresiu génov MAT a prerušiť signalizáciu sprostredkovanú leptínom. SAM významne inhiboval sekréciu kolagénu typu I a zvýšil aktivitu NF-KB. SAM tiež zvýšil polyubikvitináciu kolagénu typu I. Okrem toho SAM inhibuje kontrakciu HSC tým, že interferuje s tvorbou F-aktínových stresových vlákien a fosforylovaných ľahkých reťazcov myozínu. SAM pôsobí ako silné inhibitory Wnt signalizácie a Wnt-indukovaného lyzozomálneho extracelulárneho trávenia proteínov. Signalizácia Wnt/p-katenínu je hlavným terapeutickým cieľom pre fibrózu pečene. Nedávna štúdia zistila, že intracelulárna koncentrácia SAM je regulovaná signálnou dráhou TGF- β 1/p65/MAT2A a môže byť cieľená pri liečbe fibrózy pečene. Štúdie týkajúce sa SAM a reverzie fibrózy pečene stále chýbajú. Hlavnými hráčmi pri riešení fibrózy sú sínusové endotelové bunky pečene (LSEC), ktoré udržiavajú homeostázu pečene, ako aj pokoj HSC a Kupfferových buniek. Skúmanie

vzt'ahu medzi metabolizmom metionínu, LSEC a regresiou fibrózy môže priniesť neočakávané zistenia.

Úloha metabolizmu metionínu v HCC

Globálne je HCC štvrtou najčastejšou príčinou úmrtí súvisiacich s rakovinou. Chirurgia zostáva najúčinnnejšou liečbou s liečebným potenciálom a sú naliehavo potrebné nové liečby. MAT1A je markerom pre normálnu diferenciáciu pečene a expresia MAT2A a MAT2B sa zvyšuje počas rýchleho rastu pečene a dediferenciácie. Počas celkového vývoja pečene plodu sa pôvodne exprimovaný MAT2A postupne nahrádza MAT1A. MAT2A a jeho génový produkt, MAT IIa (dimér vytvorený z $\alpha 2$ podjednotiek), sú nadmerne exprimované v rôznych ľudských epiteliálnych nádoroch. TNF- α upreguluje MAT2A prostredníctvom NF- κ B a proteínového komplexu súvisiaceho s adaptérom 1. Nadmerná expresia MAT2A zlepšuje aktivitu promotora V-Maf vtáčieho muskuloaponeurotického fibrosarkómu onkogénneho homológu G (MAFG). Vysoká expresia MAFG koreluje s progresiou nádoru a skráteným časom prežitia. Liu a kol. odhalili, že pri rakovine pečene hypoxia aktivuje expresiu MAT2A prostredníctvom hypoxiou indukovaného faktora-1 α , čo vedie k zvýšenej aktivite enzýmu MAT II a zníženiu produkcie SAM, čo potom indukuje demetyláciu génomovej DNA. Proliferácia nádorových buniek je inhibovaná acetyláciou histónov, ktorá podporuje ubikvityláciu MAT II α a následnú proteazomálnu degradáciu. Inhibícia expresie MAT1A vedie k rastu nádoru, invázii a metastázam. Nedávna štúdia ukázala, že upregulácia forkhead boxu M1 znižuje MAT1A, zatiaľ čo zvyšuje expresiu NF- κ B; čím sa vytvorí dopredná slučka, ktorá zvyšuje tumorigenézu. Prohibitín 1 (PHB1) a MAT1A sa navzájom pozitívne regulujú, zatiaľ čo PHB1 a MAT1A vzájomne regulujú c-MYC/MAFG/c-MAF. Umlčanie MAT2B by mohlo pozoruhodne inhibovať migráciu a inváziu. Krížový rozhovor medzi MAT2B a HuR a proteínom SIRT1 ovplyvňuje terapeutický účinok resveratrolu na bunky rakoviny pečene. Navyše glycin N-metyltransferáza (GNMT), ktorá je najhojnejším pečevným MT regulujúcim dostupnosť SAM, je v HCC znížená. Delícia génu pre GNMT podporuje posun v metabolizme a prenos živín z tvorby glukózy na využitie zvýšených hladín SAM. Okrem toho MCD, ako bežne používaný model na vyvolanie CLD a dokonca aj HCC, úzko súvisí s rakovinou. Deplícia cholínu ovplyvňuje metabolizmus a transport lipidov. Jiang a kol. zistili, že suplementácia cholínu zvyšuje globálnu metyláciu DNA a expresiu peroxizomálnej acylkoenzým A oxidázy 1, ktorá sprostredkúva FA β -oxidáciu. Liu a kol. ukázali, že vyšší príjem cholínu môže zlepšiť celkové celkové zdravie. U mláďat pražmy čiernej suplementácia cholínu potlačila aktiváciu NF- κ B a zvýšila expresiu génov dráhy lipolýzy. Zvýšené vychytávanie cholínu bunkami HCC podporuje tvorbu fosfolipidov, hypermetyláciu DNA a proliferáciu hepatocytov. Gougelet a kol. ukázali, že diéta s nedostatkom cholínu ruší tieto účinky a podporuje regresiu HCC, ktorá nadmerne exprimuje β -katenín u myši. Existujú určité kontroverzie týkajúce sa MR. Obmedzený príjem metionínu zmierňuje steatózu a oneskoruje vývoj NASH prostredníctvom rôznych signálnych transdukčných dráh a efektorových molekúl, vrátane SREBP, sirtuínov a osi rastového hormónu/inzulínu podobného rastového faktora-1. Diétna MR a obmedzenie cysteínu majú priaznivé účinky na cirkulujúce biomarkery, vrátane FGF21, a MR chráni pred metabolickými ochoreniami a starnutím, potláča rozvoj rakoviny a zlepšuje terapiu rakoviny. Avšak myši MAT1A-KO, charakterizované chronickým deficitom SAM, vykazujú makrovezikulárnu steatózu, infiltráciu mononukleárnymi bunkami v periportálnych oblastiach a rozvoj HCC. MR vedie k nedostatočnému SAM, čo vedie k prechodu MAT1A/MAT2A a k celkovej hypometylácii DNA, zníženej redukcii DNA a génomovej nestabilite a abnormálnej signálnej transdukcii, vrátane nadmernej expresie c-MYC, zvýšenej syntézy PA, RAS/ERK, PI-3K upregulovaná/AKT a os LKB1/AMPK. Zníženie hladín SAM vedie k bunkovej proliferácii HCC, prežitiu buniek a mikrovaskulárnej tvorbe.

Znížené hladiny SAM a dysregulácia MAT sa považujú za potenciálne terapeutické ciele pre HCC. Skoré štúdie ukázali, že u potkanov liečených exogénnym SAM je aktivita ODC a syntéza PA významne znížená pri preneoplastických léziách pečene. Keď sú myši liečené SAM alebo kyselinou ursodeoxycholovou, indukcia MAFG je oslabená počas ligácie žlčovodu. Keď sa podáva kombinácia týchto liekov, indukcia MAFG je úplne blokovaná. Keď sa expresia MAT1A zvýši, oblasť promotora LIN28B sa stane vysoko metylovanou, čím sa zvýši expresia let-7. Zvýšenie expresie MAT1A sa zdá byť účinnou liečebnou stratégiou. Nadmerná expresia *MAT1A* v bunkovej línii Huh7 neustále zvyšovala hladiny SAM a apoptózu buniek, znižovala rast buniek a znižovala expresiu génov angiogenézy. *MAT1A* tiež interaguje s p53 a génom 1 regulovaným poškodením DNA v bunkách hepatómu. Okrem toho liečba SAM zmenila homeostázu MAT1A a MAT2A zmenou rovnováhy AUF1 a metyl-HuR / HuR, o ktorej sa prvýkrát zistilo, že inhibuje stabilitu mRNA MAT2A. SAM udržiava expresiu MAT1A, ale inhibuje expresiu MAT2A v hepatocytoch. Farmakologické dávky SAM a jeho metabolitu MTA podporujú apoptózu buniek rakoviny pečene, pričom odolávajú apoptóze normálnych pečeneových buniek; teda SAM je atraktívnym chemopreventívnym činidlom. Exogénny SAM môže inhibovať vývoj HCC obnovením normálnej hladiny SAM. 24-dňová intravenózna infúzia SAM však neovplyvnila veľkosť vytvorených nádorov, čo môže byť spôsobené kompenzačnou indukciou GNMT, a zabránila akumulácii SAM. Štúdia odhalila, že bunky iniciujúce nádor sa stávajú závislými na exogénnom metioníne kvôli vysoko zvýšenej aktivite metionínového cyklu. Dokonca aj prechodná inhibícia metionínového cyklu je dostatočná na oslabenie schopnosti iniciovať nádor. Účinnosť liečby MR závisí od mnohých faktorov. Na určenie regulačných účinkov je potrebných viac štúdií. SAM preukázal významnú klinickú hodnotu pre pacientov s pokročilými nádormi a zlepšenou prognózou; účinnosť liečby SAM si však vyžaduje ďalšie skúmanie v randomizovaných prospektívnych klinických štúdiách. Metabolizmus glutamínu je navyše horúcou témou výskumu. Lokálny nedostatok glutamínu podporuje dediferenciáciu nádoru inhibíciou demetylácie histónov. Glutamín riadi ROS prostredníctvom syntézy GSH. Metabolizmus glutamínu sa spolieha na metionínový cyklus v metabolizme jedného uhlíka, aby uplatnil svoju funkciu anti-ROS. V porovnaní s metabolizmom glutamínu je metabolizmus metionínu menej skúmaný, a preto si zaslúži ďalší výskum. Medzitým je najlepšou liečebnou stratégiou zameranie sa na viaceré metabolické dráhy na potlačenie rastu nádoru.

Záver

Na záver, metabolizmus metionínu ako dôležitá súčasť metabolizmu jedného uhlíka úzko súvisí s rôznymi patofyziologickými procesmi. Hromadiace sa predklinické dôkazy naznačujú, že zmeny v metionínovom cykle zohrávajú pri CLD patogenetickú úlohu. Prechod z MAT1A na MAT2A/MAT2B znižuje hladiny SAM, ktorý je základným faktorom pri fibróze a rakovine pečene. Zabránenie alebo dokonca zvrátenie tejto transformácie bude smerovaním budúceho výskumu. Presná kontrola hladín SAM pre poškodenie pečene je dôležitá, ale regulácia SAM nie je dobre pochopená. Predchádzajúca štúdia ukázala, že METTL16 je spojený s homeostázou SAM. Budúce štúdie sa môžu zamerať na vzťah medzi metabolizmom metionínu a m^6A . V klinickom výskume zostáva otázka, či je pri CLD potrebná suplementácia metionínu, kontroverzná. Podľa doterajšieho výskumu je možné suplementáciu metionínu kombinovať so základnými klinickými liekmi; a to môže mať neočakávané výsledky. Na preukázanie alebo vyvrátenie prínosu suplementácie SAM sú potrebné vysokokvalitné, perspektívne klinické štúdie. Okrem toho je SAM transportovaný cez črevný epitel striktno paracelulárnym mechanizmom v neprítomnosti membránových transportérov. Ako vysoko polárna molekula SAM pravdepodobne neprenikne cez lipidové

membrány. Niekoľko štúdií uvádza, že bunky Caco-2 aj hepatocyty vykazujú veľmi nízku absorpciu SAM. Zdá sa, že v bunkách cicavcov sa transport SAM vyskytuje výlučne v mozgovom endoteli, ale nie v nepatologických bunkách periférie. Exogénny SAM nepreniká plazmatickou membránou, ale vyrovnáva sa s malým oddelením, ktoré je na vonkajšej strane tejto membrány neprístupné pre sacharózu. Tieto štúdie teda ukázali, že pri liečbe CLD nemusí byť vplyv suplementácie SAM priamy. Štúdie ukázali, že exogénny SAM sa využíva na metyláciu fosfolipidov na vonkajšom povrchu plazmatickej membrány. Exogénna SAM-sprostredkovaná kontrola metylácie DNA a génovej expresie by mohla byť mechanizmom antiprogresívneho účinku SAM. Mechanizmy intestinálnej absorpcie a pečeneového vychytávania exogénne podávaného SAM a mechanizmus jeho hepatoprotekcie zostávajú neznáme. Suplementácia SAM znižuje závažnosť CLD. Tento molekulárny mechanizmus úzko súvisí s úlohou SAM, ktorá sa zúčastňuje metylačných reakcií na poskytnutie metylových skupín, vstupuje do transsulfuračnej dráhy na metabolizáciu a syntetizáciu GSH a zúčastňuje sa cyklu jedného uhlíka.

Zdroj: Zhanghao Li, Feixia Wang, Baoyu Liang, Ying Su, Sumin Sun, Siwei Xia, Jiangjuan Shao, Zili Zhang, Min Hong, *Methionine metabolism in chronic liver diseases: an update on molecular mechanism and therapeutic implication*, 2020

<https://www.nature.com/articles/s41392-020-00349-7?fbclid=IwAR3YgoLVbWWuEhsp0v87CGjvI8GcNys1x3KY0wDP6UQmanT0wDNk6Iu7H3k>