

Účinky berberínu v prefibrotických štádiách nealkoholického stukovatenia pečene

Abstrakt

Nealkoholické stukovatenie pečene (NAFLD) je hlavnou príčinou chronických ochorení pečene a jeho progresia je poznačená vývojom k nealkoholickej steatóze, steatohepatitíde, cirhóze súvisiacej s nealkoholicou steatohepatitídou a potenciálnym výskytom hepatocelulárneho karcinómu. V našom systematickom prehľade sme prehľadali dve databázy, Medline (cez Pubmed Central) a Scopus, od začiatku do 5. februára 2024 a zahrnuli sme 73 typov výskumu (deväť klinických štúdií a 64 predklinických štúdií) z 2854 publikovaných prác. Naš rozsiahly výskum zdôrazňuje vplyv berberínu na mechanizmy patofyziológie NAFLD, ako je adenosínmonofosfátom aktivovaná proteínkináza (AMPK), črevná dysbióza, receptor aktivovaný peroxizómovým proliferátorom (PPAR), sirtuíny a zápal. Štúdie zahŕňajúce ľudské subjekty ukázali merateľné zníženie tuku v pečeni okrem zlepšených profilov sérových lipidov a pečeneých enzýmov. Zatiaľ čo súčasné lieky na liečbu NAFLD sú buď vzácne, alebo sú stále vo fáze vývoja alebo uvádzania na trh, Berberine predstavuje sľubný profil. Na zvýšenie biologickej dostupnosti tejto prírodnej látky je však potrebné zlepšiť jej zloženie.

Úvod

Prevalencia nealkoholického stukovatenia pečene (NAFLD) sa za posledné tri desaťročia zvýšila o viac ako 12 % a predstavuje najčastejšie chronické ochorenie pečene. Nealkoholická steatohepatitída (NASH), ktorá predstavuje agresívnejší prejav NAFLD, je čoraz viac uznávaná ako primárny prispievateľ k rozvoju cirhózy, komplikácií spojených s cirhózou, rakovinou pečene a mortalitou súvisiacou s ochorením pečene.

Tukové ochorenie pečene spojené s metabolickou dysfunkciou (MAFLD) bolo nedávno navrhnuté na nahradenie nealkoholického stukovatenia pečene (NAFLD), aby sa lepšie uznalo, že NAFLD sa prejavuje ako porucha postihujúca viaceré systémy. Okrem toho odborníci navrhli súbor jednoduchých pozitívnych kritérií na diagnostikovanie a hodnotenie jednotlivcov na túto chorobu. Zatiaľ čo NAFLD bola vylučujúca diagnóza, MAFLD je diagnóza inklúzie s prítomnosťou steatózy pečene a jedným z troch znakov vrátane (1) nadváhy/obezity, (2) diabetes mellitus 2. typu alebo (3) chudej alebo normálnej hmotnosti s dôkaz metabolickú dysregulácie.

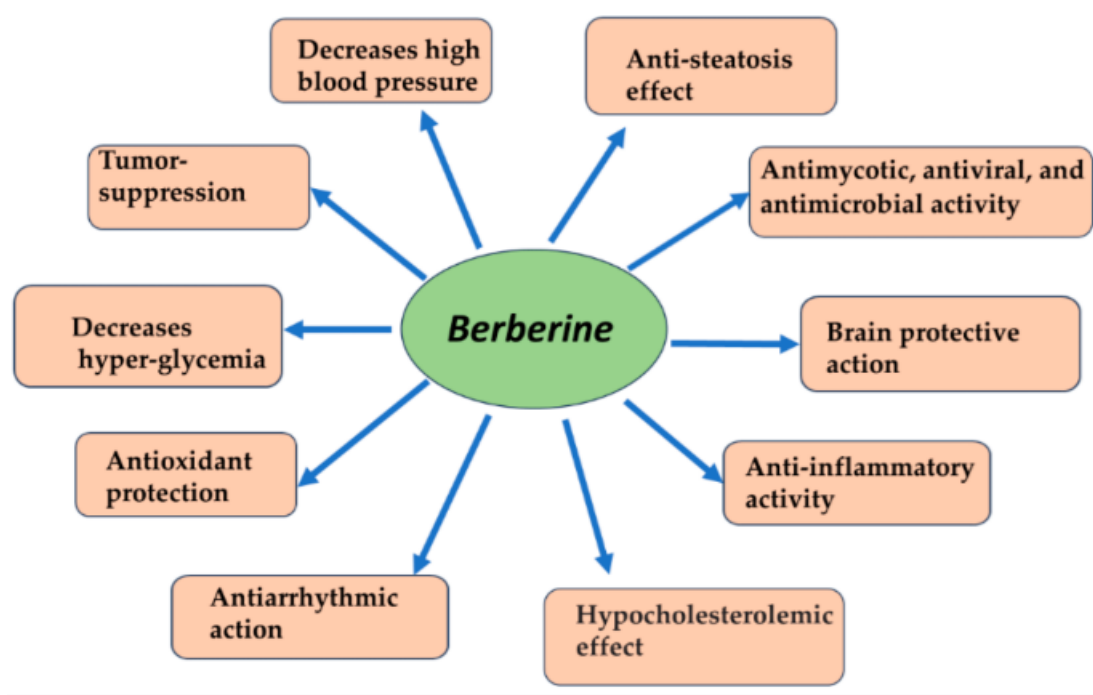
Metaanalýza uvádza, že globálna prevalencia sa za posledné tri desaťročia zvýšila z 25,26 % (95 % CI: 21,59–29,33 %) v rokoch 1990–2006 na 38,2 % (95 % CI: 33,7–42,89 %) v rokoch 2016–2019. Na základe dostupných dôkazov sa prevalencia MAFLD globálne mení a je ovplyvnená geografickým regiónom, etnickou príslušnosťou, pohlavím a stavom obezity. Najvyšší výskyt je hlásený v Európe (55,33 %, 95 % CI 36,20–73,00 %), nasleduje Ázia (36,31 %, 95 % CI 29,89–43,26 %) a najnižší výskyt je v Severnej Amerike (35,99 %, 95 % CI 30,68–41,66 %). Paralelne s metabolickou dysfunkciou asociovaná steatohepatitída (MASH), rozvíjajúca sa forma MAFLD, ktorá je charakterizovaná prítomnosťou steatózy pečene, zápalom a zväčšením hepatocytov, rýchlo rastie ako jeden z hlavných prispievajúcich faktorov cirhózy, ktorá je najrýchlejšie rastúcou príčinou hepatocelulárneho karcinómu a je tiež najrýchlejšie rastúcim ukazovateľom transplantácie pečene v Spojených štátoch. V dôsledku zvyšujúcej sa prevalence obezity a cukrovky sa predpokladá, že záťaž MAFLD v nasledujúcom desaťročí vzrastie. Nedávno publikovaná štúdia z roku 2023 zdôrazňuje skutočnosť, že epidemiologické údaje sa menia pri zvažovaní prevalence MAFLD (čo je

inkluzívnejšia diagnóza) v porovnaní s NAFLD a zistilo sa, že celosvetovo je hlásených najmenej 5–10 % viac MAFLD (30–40 %) v porovnaní so správami NAFLD. 25–30 %.

Aktuálne dostupné terapie pre NAFLD sú stále vo vývoji a je potrebné ich otestovať. V dôsledku toho existuje naliehavá potreba vyvinúť nové terapeutické stratégie na riešenie tejto nenaplnenej potreby. Na druhej strane, berberín je prírodná zlúčenina používaná už mnoho rokov ako dostupná, všestranná bylinná terapia, najmä v orientálnej medicíne. Má dokázané hypolipemické a antisteatotické účinky pri NAFLD.

Berberín predstavuje jednu zo sekundárnych zlúčenín rastliny: benzyl-izo-chinolínové alkaloidy (BIA). Tieto prírodné alkaloidové zlúčeniny sa nachádzajú vo vonkajšej vrstve stoniek a koreňov viacerých druhov liečivých rastlín z čeľade *Berberidaceae*, rodu *Berberis*.

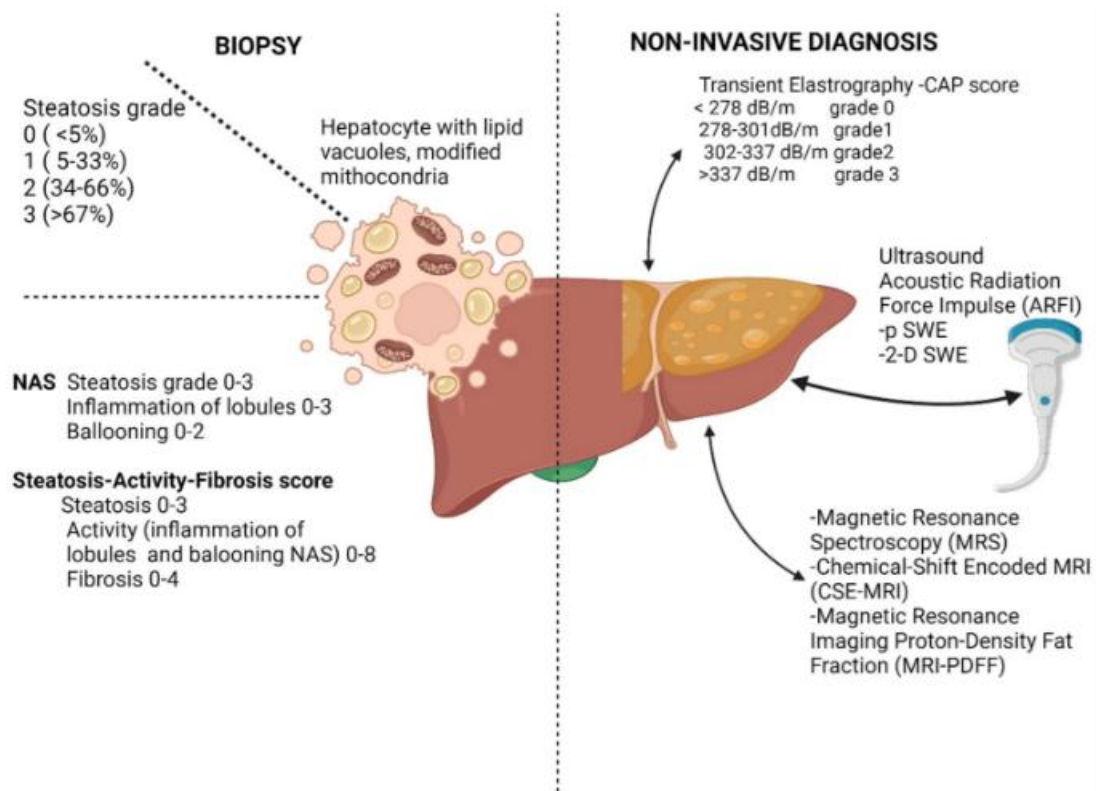
Záujem o berberín sa v posledných rokoch zvýšil kvôli jeho viacnásobným výhodám, pretože sa preukázalo, že botanické alkaloidy ako izochinolínové alkaloidy majú všestranné medicínske účinky. Ako polyfarmakologické zlúčeniny vykazovali alkaloidy antiflogistické, antiseptické, antioxidantné, bolesť tlmiace, karcinogenetické inhibičné, antispazmodické a antitusické účinky. Berberín a jeho metabolity a deriváty majú rôzne medicínske účinky. Majú multiorgánovú distribúciu s najvyššou koncentráciou na úrovni pečene. Majú však tiež vysoký účinok v obličkách, svaloch, dýchacom, cerebrálnom, srdci a pankrease a najmenšie množstvo v tukovom tkanive.



Obrázok č. 1 Viacnásobné účinky berberínu

Diagnóza steatózy pečene

Diagnóza steatózy pečene by mala byť potvrdená prítomnosťou a kvantifikáciou pečenevého tuku. Diagnóza je založená na biopsii pečene, ktorá sa považuje za invazívny postup; alternatívnymi metódami sú obrazové, neinvazívne alebo krvné testy.



Obrázok č. 2. Neinvazívne metódy a histologické kritériá v diagnostike a stagingu NAFLD. NAS – skóre aktivity NAFLD, CAP – riadený parameter útlmu, SWE – elastografia strihových vln, MRI – zobrazovanie magnetickou rezonanciou (vytvorené s Biorender.com).

Diagnóza NAFLD by mala byť zachovaná, ak bol vylúčený značný príjem alkoholu a ďalšie rozpoznané faktory poruchy pečene.

Patológia v pre-fibrotických štádiách NAFLD

Presná diagnostika steatózy pečene môže byť niekedy náročná, pretože biopsia pečene podľa zlatého štandardu je invazívny diagnostický postup náchylný na obmedzenia a nepriaznivé výsledky, hoci pre-fibrotické zmeny v pečeni by sa mohli prejaviť skôr, ako dôjde k akýmkoľvek histologickým modifikáciám, na diagnostiku sa navrhujú rôzne testy. a staging NAFLD. Napriek tomu biopsia pečene zostáva rozhodujúca pre identifikáciu NASH a zostáva jedinou metódou schopnou presne rozlíšiť medzi nealkoholickou steatózou (NAFL) a nealkoholickou steatohepatitídou (NASH). Má však obmedzenia v dôsledku nezrovnalostí vo vzorkovaní.

Počiatkové zmeny pečene pri vyšetrení na úrovni tkaniva pri NAFL pozostávajú z viac ako 5 % hepatocytov so steatózou, ale bez asociácie s intracelulárnym balonovaním alebo fibrózou. Vznikajúca steatohepatitída je charakterizovaná plošným zápalom pečenevých lalokov a variabilnými minimálnymi fibrotickými zmenami.

Konzorcium európskych patológov navrhlo a potvrdilo algoritmus stakovania pečene inhibície progresie (FLIP), ktorý kategorizuje prípady ako NASH, NAFL (non-NASH

NAFLD) alebo non-NAFLD, berúc do úvahy prítomnosť steatózy, objasnenie hepatocytov, resp. nafukovanie hepatocytov a zápalové zmeny v pečňových lalôčkoch.

Podľa skóre FLIP bol intracelulárny obsah stredne veľkých alebo veľkých lipidových vakuol a percento postihnutých hepatocytov hodnotené a klasifikované ako stupeň 0, ak je prítomných menej ako 5 % buniek, stupeň 1 medzi 5 a 33 %, stupeň 2 medzi 34 a 66 % a stupeň 3, ak je postihnutých viac ako 67 % hepatocytov (obrázok 2). Považuje sa za non-NAFLD, ak je zahrnutých menej ako 5 % hepatocytov. Napriek tomu, ak sú prítomné, minimálne 1. stupeň jednej z ďalších charakteristík, ako je zápal lalokov, nafukovanie alebo steatóza, sa považuje za NASH.

Následne Nascimbeni a kol. navrhli skóre steatózy-aktivity-fibrózy (SAF), ktoré hodnotilo nafukovanie hepatocytov a lobulárny zápal. Podľa tohto gradingu bolo histologicky závažné ochorenie charakterizované skóre aktivity SAF vyšším ako tri a/alebo prítomnosťou premostujúcej fibrózy alebo cirhózy.

Podľa Americkej asociácie pre štúdium pečňových chorôb (AASLD) predstavuje skóre aktivity NAFLD (NAS) aktivitu ochorenia bez zohľadnenia fibrózy. Steatosis-Activity-Fibrosis zároveň kvantifikuje steatózu, aktivitu (NAS 0 až 8 bodov) a fibrózu. Zdôvodnenie skórovacieho systému je opodstatnené z dôvodu významnej variability v správach o biotických vzorkách a realizovateľnosti.

Pri zvažovaní biopsie pečene pre NAFLD je nevyhnutné vziať do úvahy nákladovú efektívnosť, kvalitu vzorky, dôslednosť patológa v interpretácii alebo úroveň odbornosti, heterogénne poškodenie pečňového parenchýmu, invazívnosť výkonu. a napriek tomu ochota pacienta podstúpiť biopsiu.

Imagistické štúdie v pre-fibrotických štádiách v NAFLD

Neinvasívne metódy vzbudili záujem o neinvasívnu diagnostiku NAFLD a tieto zahŕňajú ultrazvukovú techniku, vibračne riadenú prechodnú elastografiu FibroScan a magnetickú rezonančnú spektroskopiu alebo magnetickú rezonanciu odvodenú z protónovej hustoty tukovej frakcie a sérových biomarkerov (obrázok 2).

Pokiaľ ide o spoľahlivosť ultrazvukového B-módu na hodnotenie steatózy pečene, môže byť náchylný k subjektivite a závislosti od operátora. Spolieha sa na odhad jasu pečene, rozlišovanie rozdielov v echogenicite medzi pečňou a obličkami a vizualizáciu pečňových ciev. Jeho senzitivita je nižšia ako 70 % pre stredne závažnú steatózu, ale vyššia pre závažnú steatózu. Hoci sa pripúšťajú variácie interpretácie medzi vyšetreniami toho istého operátora alebo medzi rôznymi operátormi, ultrazvuk v B-režime zostáva bezpečným postupom, neožarujúcim, cenovo dostupným, reprodukovateľným a hodnotiacou metódou prvej línie pri podozrení na stukovatenie pečene.

Hamaguchiho ultrazvukové skóre bolo navrhnuté na zlepšenie presnosti hodnotenia steatózy pečene. Zohľadňuje hĺbkový útlm, obraz vyblednutia cievy, jas pečene a kontrast medzi parenchýmom pečene a obličiek. Hoci nie je široko používaný, môže byť dobrým náhradným parametrom, keď nie je k dispozícii magnetická rezonančná spektroskopía (MRS).

Ďalšou technikou založenou na ultrazvuku, ktorú navrhla Svetová federácia ultrazvuku v medicíne a biológii (WFUMB), je metóda Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI), ktorá využíva techniku šmykových vln poháňaním dlhšieho lúča ultrazvukových impulzov. Metódy ARFI možno tiež kategorizovať ako bodovú strihovú vlnovú elastografiu (p-SWE) alebo 2-D šmykovú vlnovú elastografiu (2-D SWE) a nameranú tuhosť možno previesť na kPa, rovnako

ako CAP FibroScan. Ďalej bola vyvinutá metóda, ktorá kvantifikuje útlm ultrazvukového lúča v pečnovom tkanive a umožňuje automatizovanú extrakciu obrazových artefaktov z hodnotenia steatózy pečene, pričom táto metóda vykazuje silnú koreláciu s presnejším hodnotením MRS.

Parameter kontrolovaného útlmu (CAP) s použitím metódy prechodnej elastografie FibroScan (Echosens, Paríž, Francúzsko) ukázal dobrý výkon v porovnaní s výsledkami biopsií, najmä pri identifikácii steatózy 1. a 3. stupňa a v súvislosti s ultrazvukovým hodnotením CAP bola uskutočniteľnejšia v prípadoch steatózy. Youden použité medzné hodnoty sa pohybovali medzi 302 dB/m pre stupeň 1 a 337 dB/m pre stupeň 3 steatózy. Skóre CAP hodnotí steatózu ako stupeň 0 pre menej ako 278 dB/m, medzi 278 a 301 dB/m pre stupeň 1, 303 a 337 pre stupeň 2 a viac ako 337 pre stupeň 3 (obrázok 2). CAP hodnotí kvantitatívnu modifikáciu ultrazvukového lúča pri jeho prechode cez pečnové tkanivo a má nižšiu variabilitu medzi operátormi. Faktory, ktoré mohli ovplyvniť merania, boli ženské pohlavie, diabetes mellitus, obezita alebo metabolický syndróm .

Technika založená na magnetickej rezonancii na odhad tuku v pečeni je frakcia tuku s protónovou hustotou magnetickej rezonanciou (MRI-PDFF), ktorá poskytuje presný odhad a je široko používaná v klinických štúdiách. Ukázalo sa, že hodnotenie MRI je ešte citlivejšie ako histologické nálezy pri zisťovaní zmien tukovej pečene po 24 týždňoch intervenčných štúdií. Napriek tomu neposkytuje informácie týkajúce sa zápalového stavu alebo zmiernenia fibrózy.

Ďalšou MRI metódou je Chemical-Shift Encoded MRI (CSE-MRI) a oba postupy zisťujú pohyb voľnej vody a triglyceridov, na rozdiel od štandardnej MRI, ktorá nedokáže vnímať štrukturálne lipidy. CSE-MRI meria proporcionálne množstvo signálov vody a tuku pochádzajúcich z pečene, zatiaľ čo MRI-PDFF hodnotí podiel hustoty mobilných protónov pripisovaných triglyceridom v pomere ku kombinovanej hustote protónov z mobilných triglyceridov a mobilnej vody v percentách. (%) v rozsahu od 0 do 100%, predstavuje základný znak tkaniva, čo naznačuje koncentráciu mobilných triglyceridov v ňom.

Čo sa týka užitočnosti skenovania pozitronovou emisnou tomografiou – počítačovou tomografiou (PET/CT) pri určovaní štádia a diagnostike NAFLD, sú potrebné normy, pretože vzťah medzi indexom telesnej hmotnosti a korekciou štandardizovanej hodnoty vychytávania (SUV) [18F]2-fluór-2- dávkovanie deoxy-D-glukózy (18F-FDG) nie je v nemalígnych prípadoch stanovené. Alternatívne PET/CT indikátory navrhované na diagnostiku steatózy pečene sú kyselina 14 (R, S)-[18F] fluór-6-tia-heptadekánová (18F-FTHA), 11C-palmitát a 11C-acetát, ale stále je potrebná validácia a štandardizácia.

Sérové markery v NAFLD

Biopsia pečene je zatiaľ považovaná za zlatý štandard, pokiaľ ide o presnú diagnostiku NAFLD. Uskutočňovanie biopsií pri každom podozrení na steatotické ochorenie pečene však zostáva kontroverzné, a preto bol únavný výskum zameraný na menej invazívne testy, ktoré môžu ponúknuť lepšiu alternatívu. Tieto nové výskumné oblasti pozostávajú z rôznych markerov a skórovacích systémov, ktoré by v blízkej budúcnosti mohli potenciálne nahradiť invazívne alebo drahé metódy. Zatiaľ čo dostupné testy na fibrotické štádiá môžu byť užitočné v klinickej praxi, panely séra alebo biomarkery potrebujú ďalšiu validáciu pre NASH. Pokiaľ ide o markery apoptózy cytokeratín (CK)-18, fragment apoptózy hepatocytov bol najviac študovaný na diagnostiku NAFLD. Aj keď CK-18 nie je k dispozícii pre bežnú prax a je vhodnejší pre štúdie, nedávne štúdie ukázali sľubný výsledok týkajúci sa diagnózy NAFLD, najmä v kombinácii s testom FIB-4 (index fibrózy 4) a testom MACK-3 (nový

krvný test pozostávajúci z Homeostatic Model Assessment-Index Insulin Resistance (HOMA-IR), aspartátaminotransferázy (AST) a hladín CK18.

Okrem toho sa perspektíva markerov založených na génoch javí ako atraktívna. Podobne ako v prípade CK18 je klinická užitočnosť slabá pre skóre NASH, ktoré sa opiera o genotyp proteínu 3 obsahujúceho fosfolipázovú doménu typu patatinu (PNPLA3) alebo testy na profilovanie mikroRNA. Zeng Y. a kol. (2022) vo svojej štúdií dokázali, že sa môžu otvoriť takzvané omické biomarkery PNPLA3, TM6SF2 (transmembránový 6 superrodina 2 ľudský gén), rôzne typy mikroRNA ako miRNA-122, miRNA-199, miRNA-34a-5p alebo extracelulárne vezikuly nové dvere do budúcich diagnostických metód pre steatotické ochorenie pečene. Napriek tomu si vyžadujú ďalšie štúdium.

Okrem všetkých týchto testov je navrhnutých niekoľko testov na diagnostiku NAFLD, pričom šiestimi najviac študovanými testami sú index tuku v pečeni (FLI), AST, index pomeru krvných doštičiek (APRI), index FIB-4, pomer AST/ALT 4, Bard skóre a skóre fibrózy NAFLD (NFS). Väčšina týchto co-scoring testov pozostáva z kombinácie sérových biomarkerov a antropomorfných parametrov, ako je vek, AST, hladiny gama-glutamyltransferázy (GGT), počet krvných doštičiek, hladiny sérového albumínu, medzinárodný normalizovaný pomer (INR), zhoršená glykémia nalačno resp. prítomnosť cukrovky a index telesnej hmotnosti. Hoci sa preukázalo, že sú účinné pri vylúčení ťažkých prípadov fibrózy, žiadny z nich nedokázal rozlišovať medzi nižším a pokročilejším štádiom fibrózy pečene. Ďalším sľubným panelovým biomarkerom založeným na krvi sa zdá byť NIS-4, ktorý zahŕňa markery reprezentujúce NASH, ako je α 2-makroglobulín, miR-34a-5p, YKL-40 a hemoglobín A1c (HbA1c). To naznačuje, že by to mohol byť cenný nástroj pri identifikácii znakov NASH. Žiadny zavedený test, marker alebo algoritmus nedokáže presne diagnostikovať NAFLD; Nedávny výskum našiel nové a inovatívne spôsoby, ktorými snád nahradíme biopsiu pečene ako jediná presnú metódu diagnostiky steatózy pečene.

Patofyziológia a molekulárna signalizácia v NAFLD

Odhaduje sa, že progresia z prefibrotických do fibrotických štádií pri NAFLD sa vyskytuje vo viac ako 40 % prípadov s ročnou progresiou okolo 1 %. V predklinických štúdiách zmeny pozorované po diéte s vysokým obsahom tukov a uhl'ohydrátov ukázali progresívne zmeny na molekulárnej úrovni v pečeni, ktoré sa postupne zvyšovali z lobulárneho na portálny zápal počas 20 týždňov (od 8. týždňa do 27. týždňa). Došlo k zvýšenej expresii mRNA a proteínu chemokínového monocytového chemoatraktantu proteínu 1 (MCP-1), ktorý je zodpovedný za tukovú transformáciu a je upregulovaný počas fibrogenézy. V tej istej štúdií Ganza a kol. sa pozorovala špecifická dynamika zápalových markerov, pričom mRNA faktora nekrózy nádorov α (TNF α) a mRNA interleukínu-1 β (IL-1 β) boli spočiatku nadmerne exprimované na úrovni pečeneového tkaniva a následne v sére prostredníctvom progresívnej upregulovanej dráhy jadrového faktora kB (NF-kB).

Zápalová kaskáda je spúšťaná nadmerným príjmom tukov a sacharidov prostredníctvom aktivácie receptora P2X7 NLRP3 a TLR. Napriek tomu dobre známe črevné lipopolysacharidy spúšťajú imunitné Kupfferove bunky a iniciujú ďalší zápalový cyklus. Prostredníctvom tohto kurzu sú aktivované makrofágy M2 a markery Kupfferových buniek, ako je Cluster of Differentiation (CD) 11b, CD 68 a CD 163, ktoré sú nadmerne exprimované v pre-fibrotickom štádiu NAFLD, a tieto majú tendenciu vyblednúť, keď je fibrogenéza iniciovali a prešli na aktiváciu makrofágov M1.

Existujú progresívne kroky v tukovatej pečeni a tieto kroky zahŕňajú proces aktívneho vychytávania mastných kyselín pečenu, ktorý je závislý od transportérov, ako sú proteín transportu tukov (FATP)-2, FATP-5, CD36 a membránové kaveolíny. Zníženie regulácie

FATP-2 a FATP-5 v predklinických štúdiách súviselo so zmiernením tukovej záťaže v pečevom tkanive, znížením transportu mastných kyselín do hepatocytov a znížením triglyceridov na tejto úrovni. CD36 zároveň uprednostňoval prístup mastných kyselín s dlhým reťazcom cez pečevové X a pregnanové X pečevové receptory a peroxizómový proliferátor aktivovaný receptor (PPAR)- γ . Na bunkovej úrovni sú mastné kyseliny nasmerované do intracelulárnych organel prostredníctvom pečevových proteínov viažucich mastné kyseliny (FABP) 1, ktoré sa môžu meniť počas progresie steatózy. Ďalšie kroky zahŕňajú endogénnu syntézu lipidov, oxidačný proces mastných kyselín a uvoľňovanie lipoproteínov s veľmi nízkou hustotou (VLDL). Endogénna syntéza lipidov je založená na premene acetylkoenzýmu A na palmitát, ktorý sa po biochemickom komplexnom spracovaní transformuje na triglyceridy alebo VLDL. Napriek tomu palmitát vykazoval zápalové účinky a podporuje steatohepatitídu.

V nedávnej štúdií Moore et al. sa ukázalo, že oxidačný stres a zmenená oxidácia lipidov sú spojené s morfológickým a funkčným poškodením mitochondrií hepatocytov pri steatohepatitíde, čo je ďalej spojené so zníženou prítomnosťou proteínov oxidatívnej fosforylácie (OXPHOS) s progresiou do fibrózy. V podstate akumulácia alebo nadprodukcia lipidov prevyšuje ich export alebo oxidáciu, čo vedie k uvoľneniu nadbytočných lipidov ako VLDL, s obmedzením, keď obsah tuku v pečeni dosiahne 10 %.

Fibroblastový rastový faktor 19 (FGF-19) je proteín s hormonálnou funkciou, ktorý reguluje sekréciu žlčových kyselín po jedle počas dňa. Enterocyty ilea uvoľňujú FGF-19, ktorý je regulovaný farnesoidným X receptorom (FXR) ako odpoveď na zmeny v toku žlčových kyselín. Následne sa aktivuje komplex FGFR4-KLB na membránach hepatocytov. FGF-19 hrá dvojité úlohu pri udržiavaní rovnováhy metabolizmu lipidov. Znižuje lipidy zvýšením metabolizmu prostredníctvom FGFR1 c a FGRFR4 a znižuje produkciu žlčových kyselín v pečeni prostredníctvom rýchlosti transkripcie enzýmov Cyp7A1 a Cyp8b1. Naopak, proteín FGF21 má multimetabolický hormonálny účinok. Vykazuje vysokú expresiu na úrovni pečene, kde sa vylučuje v reakcii na zvýšenú hladinu glukózy, zvýšenie voľných mastných kyselín a zníženú dostupnosť aminokyselín. Riadi energetickú, glukózovú a lipidovú rovnováhu prostredníctvom svojich účinkov na centrálny nervový systém a tukové tkanivo.

AMP-aktivovaná proteínkinázová dráha (AMP) je hlavný intracelulárny komplex, ktorý upreguluje metabolizmus, energetickú homeostázu a bunkový rast. Okrem toho signálna dráha AMPK vykazuje heterogénne účinky prostredníctvom rôznych molekulárnych reakcií, ktoré sa nedávno stali predmetom záujmu v súvislosti s NAFLD.

Sirtuín 3 (SIRT3) je mitochondriálny proteín, ktorý sa podieľa hlavne na reakcii na oxidačný stres. Jednou z hlavných príčin metabolickej nerovnováhy spojenej s NAFLD je zvýšenie syntézy reaktívnych foriem kyslíka. SIRT sa hojne vyskytuje v tkanivách s intenzívnou metabolickou aktivitou. Jednou z najdôležitejších úloh tohto proteínu je modulácia oxidácie mastných kyselín vyvolanej oxidačným stresom.

Receptor-Y aktivovaný peroxizómovým proliferátorom (PPAR-Y) je jadrový receptor, ktorý hrá kľúčovú úlohu v metabolizme lipidov a zápalovej reakcii. Je dobre známe, že expresia PPAR-Y je zvýšená v tukovom tkanive, ktoré sa podieľa na adipogenéze, syntéze mastných kyselín a homeostáze glukózy a inhibícia pečevového PPAR-Y zabraňuje evolúcii smerom k stukovateniu pečene.

Aktuálne terapeutické látky v NAFLD

Perspektíva multisystémovej metabolickej poruchy, ktorá zahŕňa NAFLD ako MAFLD, keď koexistuje s inými metabolickými zmenami alebo chorobami, ako je diabetes mellitus typu II

alebo obezita, naznačuje, že intervenciou prvej línie by mala byť strava a zdravý životný štýl. Naopak, existuje pravdepodobnosť, že podskupina pacientov, u ktorých bola predtým diagnostikovaná NAFLD, nemusí spĺňať kritériá pre MAFLD, prejavovať zjavnú konzumáciu alkoholu alebo má známe nezvyčajné príčiny ochorenia pečene a môže zlyhať pri identifikácii subpopulácie so steatohepatitídou, ktorá nesúvisí s metabolickými faktormi a so značnou fibrózou. To môže predstavovať inú perspektívu a malo by to stimulovať nové poznatky týkajúce sa etiopatogenézy, kategorizácie a manažmentu stuhnutia pečene. Zmeny životného štýlu sú náročné na individuálnej úrovni a vyžadujú si dlhodobé dodržiavanie, čo si vyžaduje vývoj liečebných postupov.

Hlavným dôvodom oneskoreného vývoja liečby NAFLD sú ťažkosti pri spárovaní presného predklinického experimentálneho prototypu, ktorý by sa podobal ľudskej pečeni, pričom na experimentálne štúdie sa najčastejšie používajú myši, potkany, bunkové kultúry a morčatá, ktoré sú najreálnejšie.

Najnovšie schválenou molekulou na liečbu NASH je Resmetirom, selektívny agonista receptora beta hormónu štítnej žľazy (THR- β), s per os podávaním. Resmetirom dokázal znížiť tukovú záťaž pečene pozorovateľnú na MRI-PDFF, čo bolo potvrdené zlepšenými biochemickými markermi pečeneového profilu a fibrózy a nižšou hodnotou profilu sérových lipidov. Klinické skúšanie MAESTRO pokračovalo ku klinickým skúšaniam fázy 3 MAESTRO-NAFLD-1 a MAESTRO-NAFLD-OLE s cieľom ďalej posúdiť a stanoviť profil bezpečnosti lieku Resmetirom s cieľom získať schválenie Úradu pre potraviny a liečivá (FDA) ako prvý liek pre liečbu NASH s fibrózou alebo bez nej. Ďalší výskum sa zamerával na agonistu PPAR- γ pioglitazón, ktorý ako nežiaducu udalosť vyvolával prírastok hmotnosti, a agonistu farnesoidného X receptora na kyselinu obeticholovú, ktorá bola spojená s vyššími hodnotami sérového LDL cholesterolu a exacerbovaným kožným svrbením. Ďalším agonistom PPAR použitým v štúdiách, ktoré zahŕňali pacientov s NAFLD, je saroglitazar, spolu so zlepšením alanínaminotransferázy (ALT) a dyslipidémie preukázali znížený obsah tuku v pečeni až o 45 % po 16 týždňoch.

Potenciálne liečby NAFLD sú pozoruhodné, vrátane FGF-19 a analógov FGF-21. Aldafermin, nemitogénny analóg FGF-19, preukázal zlepšenie hodnôt MRI-PDFF pečeneového tuku alebo histologického skóre NAS spojené s nižšími hladinami lipidov a pečeneových enzýmov v sére po 12 týždňoch liečby u pacientov s NASH. Štúdie tiež pozorovali klesajúce trendy sérových fibrotických markerov, ako je pro-peptidový kolagén typu III (Pro-C3).

Použitie Pegbelferminu a Efruxiferminu, oboch analógov FGF-21, viedlo k významnému zníženiu obsahu tuku v pečeni u pacientov s diagnózou histologického NASH. V štúdiách CENTAUR a AURORA duálny antagonista chemokínového receptora 2/5 (CCR2/CCR 5 antagonista)-cenicivirok zlepšil štádiá fibrózy bez toho, aby mal účinky na NASH. V štúdiu fázy 2b, ktorú uskutočnili Loomba a kol., viedlo podávanie selektívneho inhibítora kinázy 1 regulujúcej apoptózu (ASK-1), selonsertibu k viac ako jednému stupňu regresie fibrózy u pacientov s NASH a F2-F3 skóre fibrózy.

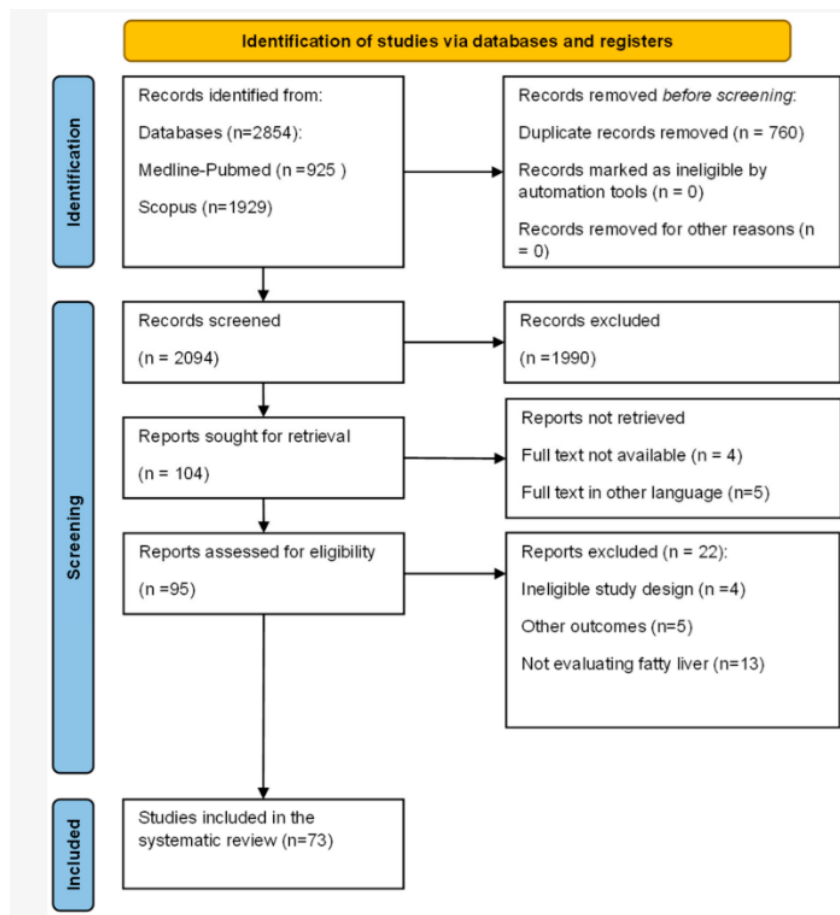
Významným aspektom NAFLD, ktorý by mohol potenciálne ťažiť z budúcich molekulárnych zásahov, je prítomnosť znížených markerov mitochondriálneho obratu pred zníženou oxidáciou mastných kyselín v pečeni a zvýšenou produkciou reaktívnych foriem kyslíka (ROS). To naznačuje, že tieto zníženia môžu iniciovať ďalšie zhoršovanie mitochondrií a následnú progresiu do NASH. Tieto údaje súhrnne zdôrazňujú kritickú a novú úlohu pri oxidácii mastných kyselín a mitochondriálnom obrate v pečeni a naznačujú potenciálne budúce ciele na prevenciu a liečbu NAFLD/NASH u ľudí.

Metódy

Cieľom nášho prehľadu je zdôrazniť účinky berberínu ako prírodnej a dostupnej zlúčeniny na rôzne metabolické procesy s dôrazom na jeho rôzne molekulárne dráhy a ich výsledky týkajúce sa NAFLD.

Systematicky sme prehľadali dve databázy, Medline (cez Pubmed Central) a Scopus, od začiatku do 5. februára 2024. Naše vyhľadávanie obsahovalo dva pojmy, jeden súvisiaci s berberínom a druhý so stukovatením pečene. Použil sa nasledujúci kľúč vyhľadávania: ((berberine [výrazy MeSH]) ALEBO berberi*) A (pečeň [výrazy MESH] ALEBO „tučná pečeň“ [výrazy siete] ALEBO pečeň ALEBO NAFLD ALEBO NASH ALEBO MAFLD). Okrem automatizovaných metód vyhľadávania sme tiež manuálne vyhľadávali citácie z recenzií týkajúcich sa podobných tém. Recenzia brala do úvahy iba publikované články. Pre túto kontrolu nebol vytvorený žiadny špecifický protokol.

Články získané rozšíreným vyhľadávaním boli stiahnuté do Endnote X (Clarivate Analytics, Philadelphia, PA, USA). Duplikáty boli automaticky odstránené a potom manuálne odstránené. Dvaja nezávislí výskumníci (SB a CP) vykonali výber a tretia strana (AN) vyriešila nezhody (obrázok 3).



Obrázok 3. Vývojový diagram pre štúdiu: Preferované položky hlásenia pre systematické prehľady a metaanalýzy (PRISMA).

Uvažovali sme o vhodných nehumánných štúdiách na potkanoch, myšiach alebo bunkových líniiach a klinických štúdiách.

Vylúčili sme prehľady, kazuistiky, štúdie, ktoré neuviedli, ako stanovili diagnózu tukovatenia pečene spojeného s metabolizmom, liekmi indukované, ischemické, vírusové alebo autoimunitné príčiny poškodenia pečene a alkoholické tukovatenie pečene.

Dvaja nezávislí hodnotitelia (AN a AB) extrahovali údaje. Údaje zahŕňali podrobnosti, ako je prvý autor, rok vydania, celkový počet účastníkov štúdie, použité intervenčné opatrenia, dávka berberínu a trvanie intervencie.

Primárny výsledok zahŕňal diagnózu NAFLD a účinky berberínu na NAFLD a sekundárny výsledok predstavovali účinky na biochemické markery, lipidový profil a pečenný enzymatický profil súvisiaci s NAFLD, o Berberine (BBR) a jeho vplyve na NAFLD spolu s pečennými sérovými enzýmami a sérovými lipidmi, ako aj metabolické poruchy spojené s NAFLD, ako je diabetes mellitus typu II alebo obezita; hľadali sme relevantné predklinické a klinické štúdie.

Výsledky

V kontexte intervenčných štúdií v NAFLD sa pozornosť sústreďuje na potenciálne terapie s účinkami proti steatóze. Toto je obzvlášť evidentné, keď existujú podstatné dôkazy o znížení obsahu tuku v pečeni počas fázy I alebo II, popri sekundárnych ukazovateľoch, ako sú pečenné enzýmy v sére alebo lipidový profil. Stanovená asociácia intervenčného opatrenia so stratou hmotnosti a znížením obsahu tuku v pečeni bez pozorovanej toxicity uľahčila postup do 3. fázy štúdií.

Klinické štúdie o BBR a NAFLD

Štúdie zahŕňajúce ľudské subjekty sa spoliehali na objektívnu kvantifikáciu množstva tuku v pečeni pomocou MRS, MRI-PDFF, ultrasonografie a ¹⁸F-FDG PET/CT pred a po podaní formy BBR vzorca a tiež merali lipidové a pečenné biochemické profily (tabuľka 1).

Autori	Typ klinickej štúdie	Farmaceutická intervencia a dávkovanie	Účastníci štúdie	Výsledky a kľúčové vplyvy na NAFLD	Metódy hodnotenia NAFLD
Harrison SA. a kol., 2021 [68]	Randomizovaná, dvojito zaslepená, placebo fáza 2	Berberín ursodeoxycholát (BUDCA) (18 týždňov) BUDCA 500 mg dvakrát denne/BUDCA 1000 mg dvakrát denne/ placebo.	88 (27/30/32)	Obsah pečenevého tuku MRI-PDFF bol 2,4-krát nižší v skupine s vyššou dávkou BUDCA v porovnaní s placebom (4,8 % vs. 2,0 %) Sekundárne cieľové ukazovatele: Zlepšenie profilu pečenevých enzýmov – priemerné hladiny ALT boli 6,3-krát nižšie ako v skupine s placebom a Hladiny GMT boli 15-krát nižšie ako v skupine s placebom. Čo sa týka profilu sérových lipidov, BUDCA vo vyšších dávkach vykazuje lepšie výsledky pri znižovaní hladín LDL-c.	MRI-PDFF, profil pečenevých enzýmov a profil sérových lipidov
Yan HM. a kol., 2015 [69]	Randomizovaná, paralelná, multicentrická, kontrolovaná, otvorená klinická štúdia.	BBR 500 mg trikrát denne po 30 minút pred jedlom (16 týždňov) Intervencia životného štýlu skupiny A (LSI)/skupina B-LSI plus PGZ (15 mg qd) pioglitazón/skupina C-LSI plus BBR	155 (53/47/55)	Ukázalo sa, že obsah ¹ H-MRS tuku v pečeni sa zlepšil lepšie, keď subjekt dostal zásah do životného štýlu a BBR, a nie len zmeny v stravovaní. (-17,4 % vs. -12,1 %, $p < 0,008$). Sekundárne cieľové ukazovatele: Zlepšenie profilu pečenevých enzýmov, ako aj profilu sérových lipidov.	Hydrogen-1 MR spektroskopia (¹ H MRS) Profil pečenevých enzýmov a profil sérových lipidov
Ruiz-Herrera VV. a kol., 2023 [70]	Randomizovaná, dvojito zaslepená, placebo kontrolovaná klinická štúdia	BBR 500 mg tid (20 týždňov) BBR tid/placebo (kalcinát magnézia) 400 mg tid	36 (19/17)	Skupina liečená BBR vykazovala mierne zlepšenie lipidového profilu, ale toto nebolo štatisticky relevantné. Sekundárne koncové body: Lepšia kontrola metabolizmu glukózy. V súčasnej štúdii sa naši relevantné zlepšenia týkajúce sa vlastností metabolického syndrómu.	Profil pečenevých enzýmov a profil sérových lipidov.
Chang X. a kol., 2016 [71]	Randomizovaná, paralelné kontrolovaná, otvorená klinická štúdia	BBR 500 mg trikrát denne 30 minút pred jedlom (16 týždňov) Skupina A-LSI/Skupina B-LSI plus BBR	41 BBR/39 LSI 80 PTS	¹ Obsah tuku v pečeni HMRS sa znížil v skupine liečenej BBR v porovnaní so skupinou liečenou len LIS. (13,6 % vs. 20,3 %, $p = 0,021$) Sekundárne cieľové ukazovatele: Účinok BBR na zníženie lipidov sa prejavil rôznymi zmenami v profile lipidov.	Hydrogen-1 MR spektroskopia (¹ H MRS) Profil pečenevých enzýmov a profil sérových lipidov
Geng Q. a kol., 2022 [72]	Retrospektívna kohorta	BBR 500 mg tid (16 týždňov) BBR + Úprava stravy a cvičenie/Bicyklol + Úprava stravy a cvičenie /Úprava stravy a cvičenie	385 (112/145/128)	Pomer CT pečene/sleziny sa významne zlepšil v skupine liečenej BBR s hodnotou $p < 0,0001$. Steatóza pečene bola výrazne oslabená pri biopsiách pečene po liečbe BBR (4,44 vs. 5,28, $p < 0,0001$), čo dokazuje zlepšené skóre NAS. Sekundárny cieľový ukazovateľ: liečba BBR zlepšila funkčné pečenevé testy, čo dokazuje významný pokles hladín AST aj ALT ($p < 0,0001$, v uvedenom poradí, $p < 0,001$). V skupine liečenej BBR nebolo zaznamenané žiadne významné zlepšenie profilu sérových lipidov.	Pomer pečej/slezina CT skenovanie Skóre aktivity NAFLD pri biopsii pečene (skóre NAS) Profil pečenevých enzýmov a profil sérových lipidov
Nejati L. a kol., 2022 [73]	Otvorená, dvojito zaslepená, randomizovaná, kontrolovaná štúdia	6,25 g denne po (7 týždňov/45 dni)	48 (24/24)	Liečba BBR nezlepšila funkčné pečenevé testy.	Ultrasonografia Profil pečenevých enzýmov a profil sérových lipidov
Yan H. a kol. (2021) [74]	Randomizovaná, paralelné kontrolovaná, otvorená klinická štúdia s tromi ramenami.	BBR 500 mg tid (16 týždňov) (1) LSI (2) LSI + PZG (3) LSI + BBR	155 (85/70)	Obsah tuku v pečeni (LFC) bol významne znížený u žien liečených BBR v porovnaní so samotným zásahom do životného štýlu (-11,88 %, $p = 0,02$ BBR + LSI vs. LSI) a u mužov neboli žiadne významné výsledky. Muži však lepšie reagovali na zníženie LFC v BBR + LSI vs. LSI + PZG (-11,29 %, $p = 0,07$). BBR nemal významný vplyv na zníženie obsahu tuku v pečeni v porovnaní so skupinami PZG alebo LSI (BBR + LSI vs. LSI, $p = 0,124$ a BBR + LSI vs. PZG + LSI, $p = 0,222$). Sekundárne výsledky: Pioglitazón mal vynikajúce účinky na metabolizmus glukózy a obsah tuku v pečeni u žien.	Ultrasonografia. Vodíková-1 MR spektroskopia (¹ H MRS).
Cossiga V. a kol. (2019) [75]	Randomizovaná kontrolovaná štúdia	Rastlinné extrakty pozostávajúce z: 500 mg BBR 30 mg tokotrienolov 30 mg kyseliny chlorogénovej (trvanie nie je uvedené) (1) placebo (2) liečená skupina	49 (26/23)	Významné zlepšenie strednej hodnoty CAP po liečbe v porovnaní s placebom ($p < 0,01$). Sekundárne výsledky: Na konci štúdie sa profil pečenevých enzýmov a profil sérových lipidov významne nezmenil. Lepšia kontrola metabolizmu glukózy v liečenej skupine.	Prechodná elastografia – hodnota CAP. Profil pečenevých enzýmov a profil sérových lipidov.
Wu L., 2019 [76]	Intervenčná prospektívna štúdia /predklinická štúdia	BBR 500 mg tid, po, 30 minút pred jedlom (4 týždne)	10	¹⁸ F-FDG PET/CT ukázal, že 1 mesiac liečby BBR bol spojený s významne zvýšeným náborom a aktivitou hnedého tukového tkaniva ($p < 0,05$). Sekundárne cieľové ukazovatele: Mierne zlepšenie bazálneho metabolizmu po liečbe BBR. V profile sérových lipidov sa nezistili žiadne významné zmeny.	¹⁸ F-FDG PET/CT a Micro ¹⁸ F-FDG PET/CT zobrazovanie (pre myši). Profil pečenevých enzýmov a profil sérových lipidov.

Tabuľka 1 - Klinické štúdie s berberínom ako intervenčným činidlom pri NAFLD.

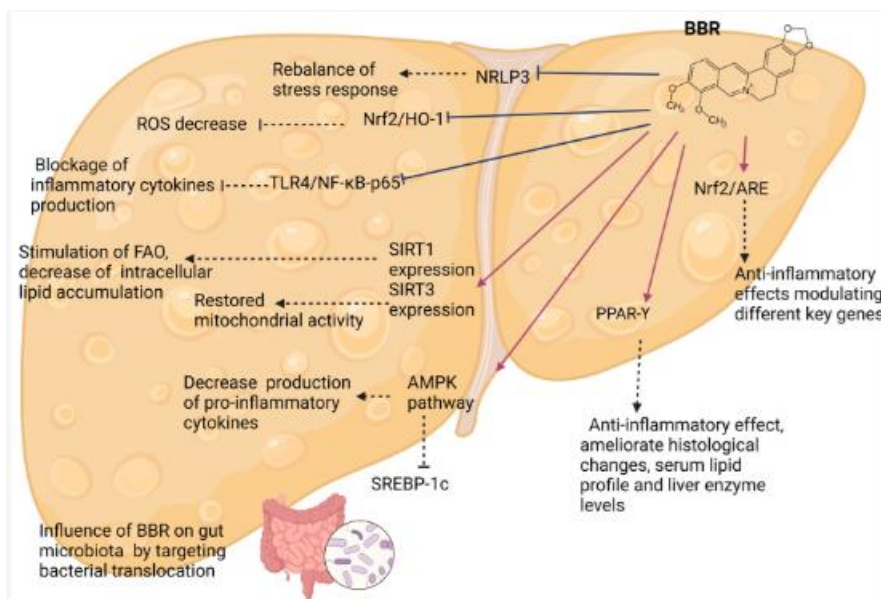
Účinok berberínu u ľudí súvisí s jeho biologickou dostupnosťou, ktorá výrazne ovplyvňuje výsledky. Podľa Biopharmaceutics Classification System (BCS) by berberín mohol byť klasifikovaný ako BCS triedy II a IV. Táto klasifikácia sa pripisuje biologickým účinkom berberínu, ktoré sú ovplyvnené jeho biologickou dostupnosťou, ktorá zostáva nižšia ako 0,01 do 48 hodín. Toto obmedzenie je primárne spôsobené jeho obmedzenou rozpustnosťou a pomalým rozpúšťaním vo vode. Berberín tiež znížil absorpciu v črevách, čo ukazuje, že menej ako jedna tretina sa absorbuje na črevnej úrovni v štúdiách na zvieratách.

Toto je prekážkou, pretože najjednoduchšie a optimálne podanie je orálna cesta, pričom parenterálne podanie súvisí s nepriaznivou toxicitou berberínu, nerovnomernou difúziou, nízkou bunkovou internalizáciou a rýchlou elimináciou liečiva. Ďalším faktorom, ktorý ovplyvňuje biologickú dostupnosť berberínu, je zásah efluxného membránového transportéra P-glykoproteínu, ktorý obmedzuje bunkové vychytávanie xenobiôtík v gastrointestinálnom trakte.

Metódy vyvinuté na zvýšenie dostupnosti berberínu sú dodávanie nosičmi s nanorozmermi s anorganickými aj organickými zložkami, ako sú polyméry, lipidy, zlato alebo magnetické porézne nanomateriály. V štúdií Kohliho K. et al. boli použité netoxické, biologicky kompatibilné polyméry chitosan a alginát a výsledky ukázali pozoruhodne zvýšenú biologickú dostupnosť berberínu. Nanotechnologická lieková formulácia s enkapsulačnými micelami ako transportérmi umožňuje solubilizáciu hydrofóbných molekúl BBR bez zmeny farmakologického zloženia. BBR ako hydrofóbné jadro obalené v tenkej škrupine hydrofilných micelárnych segmentov (roztok micel so zabudovaným BBR) sa ukázalo ako realizovateľné s 80% úspešnosťou a zvýšeným účinkom BBR v porovnaní so štandardným podávaním formulácií v predklinických štúdiách. Ďalší navrhovaný vzorec využíval kyselinu polymliečnu (PLA) ako konfiguráciu bioaktívneho materiálu stabilizovanú postupom koaxiálneho elektrorozprašovania na získanie nanovrstvenia BBR. V tejto in vivo a in vitro štúdií výsledky ukázali lepšiu internalizáciu nanočastíc kyseliny polymliečnej naplnenej BBR na bunkovej úrovni v porovnaní so štandardnou BBR, s lepším uvoľňovaním a pôsobením na neoplasticky transformované bunky. Ďalšie navrhované systémy dodávania na zlepšenie biologickej dostupnosti a zníženie degradácie BBR boli nosiče, ako sú lipidové vezikuly, vezikuly neiónových povrchovo aktívnych látok, dendritické nanočastice, častice nanostriebra alebo nanozlata, ultrajemné emulzie alebo etozómy (častice na báze etanolu).

Predklinické štúdie berberínových účinkov v experimentálnych modeloch

Aby sme lepšie porozumeli rôznym účinkom BBR, pokúsili sme sa zhrnúť viaceré cesty, v ktorých táto zlúčenina uplatňuje svoje vlastnosti. BBR je všestranný alkaloid, ktorý sa podieľa na širokom spektre molekulárnych a chemických reakcií spojených s patofyziológiou stukovatenia pečene. V nasledujúcich odsekoch sme predstavili tieto molekulárne ciele, ako na ne pôsobí BBR a ich metabolické účinky (obrázok 4 , tabuľka 2 , tabuľka 3 a tabuľka 4 , doplnková tabuľka S1).



Obrázok 4. Hlavné dráhy berberínskej modulácie v NAFLD (vytvorené s Biorender.com). NLRP3 – NACHT, LRR a PYD domény obsahujúce zápalový proteín 3, ROS – reaktívne formy kyslíka, Nrf2/HO-1-Nrf2 – jadrový faktor, erytroidný faktor 2/faktor súvisiaci s hemoxygenázou 1, FAO – oxidácia mastných kyselín, Nrf2/ARE – jadrový faktor, faktor súvisiaci s erytroidmi/antioxidačná odpoveď, SIRT1 – sirtuín 1, SIRT3 – sirtuín 3, TLR4/NF-κB-p65 – toll-like receptor 4/jadrový faktor κB-p65, AMPK – adenoínmonofosfát – Aktivovaná proteínkináza, SREBP-1c – proteín viažuci sterolový regulačný element 1c, BBR – berberín, PPAR-γ – receptor aktivovaný peroxizómovým proliferátorom-γ (→ aktivačný mechanizmus, † downregulácia, --- efekt).

Autori	Experiment a Typ modelu	Cesta
Chen D. a kol. (2023) [84]	Potkany Sprague-Dawley	Kultúry mikroflóry pečene a sleziny. Analýza genómovej DNA pre črevnú mikroflóru.
Dai Y. a kol. (2022) [85]	Potkany Sprague-Dawley	Analýza genómovej DNA pre črevnú mikroflóru. ELISA na hladiny zápalových cytokínov.
Wang Y. a kol. (2021) [86]	Zmiešané pozadie C57Bl/6J a 129S1/SvlmJ (B6/12) myši	Zvýšená expresia a analýza viacerých bunkových dráh zapojených do indukcie a progresie NAFLD.
Shu X. a kol. (2021) [87]	Myši C57BL/6J	Upregulácia dráhy FXR a hladín FGF-15. Analýza genómovej DNA pre črevnú mikroflóru.
Mehrdoust S. a kol. (2021) [88]	Potkany Sprague-Dawley	Upregulácia hladín adiponektínového receptora 2 (AdipoR2) a expresia ERK mitogénom aktivovanej proteínkinázy (MAPK) a ich vplyv na zápal a progresiu NAFLD.
Li QP. a kol. (2021) [89]	Potkany Sprague-Dawley	Aktivácia dráhy AMPK
Cossiga V. a kol. (2021) [90]	C57BL/6J myši (in vivo)	Analýza genómovej DNA pre črevnú mikroflóru.
Wang L. a kol. (2021) [91]	Potkany Sprague-Dawley	ELISA na hladiny zápalových cytokínov Zníženie regulácie jadrovej translokácie NF-κB prostredníctvom dráhy TLR4/MyD88/NF-κB.
Lu Z. a kol. (2021) [92]	Potkany Wistar divokého typu (WT).	Downregulácia signálnej dráhy chemerin/CMKLR1 a pomeru Treg/TH17.
Yu M. a kol. (2021) [93]	C57BL/6J	Upregulácia mitochondriálnej aktivity aj dráhy AMPK, analýza genómovej DNA pre črevnú mikroflóru
Chen P. a kol. (2021) [94]	Potkany Sprague-Dawley	Downregulácia triglyceridového transferového proteínu (MTTP), apolipoproteínu B a nízkohustotného lipoproteínového receptora (LDLR)
Lu Z. a kol. (2020) [95]	Potkany Sprague-Dawley	Upregulácia analýzy signálnej dráhy Angptl2 odvodenej od adipocytových makrofágov.
Wang W. a kol. (2020) [96]	Potkany Sprague-Dawley	Upregulácia dráhy NOD1, NOD2. Zápalová aktivita NLRP3
Zhang YP. a kol. (2019) [97]	Potkany Sprague-Dawley	Aktivácia dráhy SIRT3/AMPK/ACC.
Xu X. a kol. (2019) [98]	C57BL/6J myši	Aktivácia dráhy SIRT3 a jej účinky na metabolizmus lipidov. Stimulácia hladín mitochondriálnej β-oxidácie.
Wu L. a kol. (2019) [76]	C57BL/6J myši	Micro ¹⁸ F-FDG PET/CT. Meranie teploty a metabolickej aktivity. Analýza tukového tkaniva.
Luo Y. a kol. (2019) [99]	C57BL/6J myši	Downregulácia dráhy p38MAPK/ERK-COX2. Analýza.
Deng Y. a kol. (2019) [100]	Potkany Sprague-Dawley	Upregulácia signálnej dráhy Nrf2/ARE a génov zapojených do zápalovej reakcie.
Zhao J. a kol. (2018) [101]	Potkany Sprague-Dawley	Aktivácia dráhy AMPK.
Feng WW. a kol. (2018) [102]	Potkany Sprague-Dawley	Downregulácia proteínu 1c viažuceho sterolový regulačný element (SREBP-1)c, pERK, TNF-a a pJNK génov zapojených do zápalovej reakcie.

Zhao L. a kol. (2017) [103]	Potkany Sprague-Dawley	Profil pečeňových enzýmov a profil sérových lipidov. Histologická analýza.
Yang J. a kol. (2017) [104]	C57BL/6J s nedostatkom apolipoproteínu E (ApoE ^{-/-})	Aktivácia CXC chemokínového receptora typu 4 (CXCR4)/CXCL12 signálnej dráhy.
Zhao W. a kol. (2016) [105]	Potkany Sprague-Dawley	ELISA na detekciu hladín prozápalových cytokínov (TNF- α a IL-6). Upregulácia aktivity PPAR- γ a inzulínového receptora (IR).
Cao Y. a kol. (2016) [106]	Myši BALB/c	Profil pečeňových enzýmov a lipidový profil. Histologická analýza. RT-PCR pre kľúčové enzýmy a proteíny.
Xue M. a kol. (2015) [107]	db/db myši	Downregulácia lipogénnych génov: syntáza mastných kyselín (FAS), stearyl-CoA desaturáza (SCD1) a steroidový regulačný element viažuci proteín 1c (SREBP1c). Upregulácia lipolytického génu karnitín palmitoyltransferázy-1 (CPT1).
Ragab SM. a kol. (2015) [108]	Potkany Wistar	Upregulácia receptora y aktivovaného peroxizómovým proliferátorom (PPAR γ) v tukovom tkanive a pečeni.
Heidarian E. a kol. (2014) [109]	Potkany Wistar	Downregulácia aktivity fosfatidátfosfhydrolázy (PAP). Test hladiny antioxidantov.
Teodoro JS. a kol. (2013) [110]	Potkany Sprague-Dawley	Stimulácia mitochondriálnej aktivity a hladiny reaktívnych foriem kyslíka. Upregulácia meraní úrovne aktivity SIRT3.
Yang QH. a kol. (2011) [111]	Potkany Sprague-Dawley	Downregulácia mechanizmu uncoupling protein-2 (UCP2).
Xing LJ. a kol. (2011) [112]	Potkany Wistar	Analýza signifikantnej upregulácie inzulínového receptorového substrátu-2 (ISR-2).
Chang XX. a kol. (2010) [113]	Potkany Sprague-Dawley / pečaň potkana byvola (BRL)	Downregulácia génov spojených s metabolizmom lipidov: CPT-1, MTTP a LDLR.

Tabuľka 2. In vivo predklinické štúdie účinkov Berberine na dráhy NAFLD.

Autori	Experiment a Typ modelu	Cesta
Ma X. a kol. (2024) [114]	HepG2 bunková kultúra/BALB/c myši	Upregulácia rôznych génov zapojených do metabolizmu lipidov.
Ye C. a kol. (2023) [115]	C57BL/6J myši/HepG2 bunková kultúra	ELISA na hladiny zápalových cytokínov. Downregulácia aktivity génov Clock a Bmal1.
Guo HH. a kol. (2023) [116]	ApoE ^{-/-} myši/Caco-2 bunky	Analýza genómovej DNA pre črevnú mikroflóru. Downregulácia signálnej dráhy TLR/NF-KB vrátane TLR2, TLR4 a IKK β . Upregulácia dráhy AMPK, ELISA na hladiny zápalových cytokínov.
He H. a spol. (2023) [117]	L02 a HepG2 bunkové línie C57BL/6 J myši	Downregulácia aktivity lipokalínu-2 (LCN2).
Zhou LM. a kol. (2023) [118]	C57BL/6 J myši divokého typu (WT) a/HepG2 bunkové línie	Potlačenie analýzy dráhy SREBP1/FASN.
Wang P. a kol. (2022) [119]	Bunková línia HepG2 a AML12/myši C57BL/6J	Upregulácia aktivity SIRT1 a CPT1A.
Chen Y. a kol. (2021) [120]	C57BL/6 J myši/Caco-2 ľudská bunková línia rakoviny hrubého čreva LO2 ľudská normálna pečeňová bunková línia	Downregulácia aktivity NF-KB dráhy.
Yang S. a kol. (2022) [121]	Bunkové kultúry C57BL/6J HepG2 myši	Profil pečeňových enzýmov a profil sérových lipidov. Analýza genómovej DNA pre črevnú mikroflóru.
Li H. a kol. (2022) [122]	Myši bunky C57BL/6J/HepG2	Analýza genómovej DNA pre črevnú mikroflóru.
Dai L. a kol. (2022) [123]	Kultúra buniek HepG2/myši C57BL/6J	Downregulácia dráhy SETD2 a aktivity histónov (H3K36me3)
Zhang Y. a kol. (2021) [124]	C57BL/6J myši/L02 bunková kultúra	Analýza hladín prozápalových cytokínov. Potlačenie dráhy NLRP3 a stresovej oxidačnej reakcie.
Ma CY. a kol. (2021) [125]	C57BL/6J myši, ApoE ^{-/-} myši/Hep G2 bunky	Aktivácia signálnej dráhy MAPK/ERK1/2. Znížená regulácia expície PCSK9.
Mai W. a kol. (2020) [126]	Bunková kultúra AML12 a myši/C57BLKS/J (in vivo a in vitro)	Potlačenie kaspázy-1 a pyrínovej domény rodiny receptorov podobného Nod obsahujúcej analýzu 3 (NLRP3) zápalových aktivít a ROS.
Zhu X. a kol. (2019) [127]	C57BL/6 J a ob/ob myši / bunky HepG2 a AML12 a šesť biopsií pečene od pacientov s NAFLD	Downregulácia dráh AMPK-SREBP-1c-SCD1.
Sun Y. a kol. (2018) [128]	C57BL/6J myši/hep G2 bunkové kultúry	Upregulácia dráhy SIRT1/autofágie/aktivity FGF21.
Liang H. a kol. (2018) [129]	C57BL/6J myši/bunkové kultúry	Downregulácia ATP-väzbového kazetového transportéra A1 (ABCA1) a aktivity dráhy proteínkinázy C5.
Sun Y. a kol. (2017) [130]	Myši C57BL/6J/potkany Sprague Dawley/bunkové línie ľudského hepatómu Huh7 a HepG2	Meranie aktivity Mn-SOD a aktivity mitochondriálneho dýchacieho reťazca. Downregulácia aktivity dráhy Nrf2/HO-1.
Choi Y.J. a kol. (2017) [131]	Myši C57BL/6J/bunkové kultúry HepG2	Aktivácia AMPK, dráh ERK-C/EBP α a expícia CD36.
Zhang Z. a kol. (2016) [132]	Myši C57BL/6J (db/db)/HepG2, bunkové línie FAO. AML 12	Aktivácia dráhy ATF6/SREBP-1c.
Qiang X. a kol. (2016) [133]	Myši C57BLKS/J (db/db)/ICR myši	Aktivácia dráhy AMPK.
He Q. a kol. (2016) [134]	LO2 ľudská bunková línia/myši C57BL/6	Vylepšená autofágia indukovaná aktivovanou mTOR dráhou závislou od ERK.

Tabuľka 3. Zmiešané štúdie (in vivo a in vitro) týkajúce sa účinkov berberínu v dráhach NAFLD.

Autori	Experiment a Typ modelu	Cesta
Rafiei H. a kol. (2023) [138]	Bunkové kultúry HepG2/LX-2 hviezdicové bunky, diferencované THP-1 bunky	ELISA na kvantifikáciu hladín zápalových cytokínov a chemokínov. Nižšie hladiny ROS.
Shan MY. a kol. (2021) [139]	Bunková kultúra HepG2	RT-PCR a Western blot pre kľúčové enzýmy. Downregulácia dráhy SIRT1-FoxO1-SREBP2.
Wang Y. a kol. (2020) [140]	Makrofágy (RAW264.7) a hepatocytové bunkové línie	Downregulácia stresovej reakcie endoplazmatického retikula a dráhy ERK1/2. Potlačenie zápalu vyvolaného PA/LPS.
Sharma A. a kol. (2020) [141]	Bunkové kultúry HepG2 a Hepa 1-6	Aktivácia AMPK/mTOR/SREBP-1c a AMPK/Nrf2 moduluje metabolizmus lipidov a zápalový a oxidačný stres.
Babaei Khorzoughi R. a kol. (2019) [142]	Bunkové kultúry HepG2	Downregulácia expície SREBP-1c a FAS
Rafiei H. a kol. (2019) [143]	Bunkové kultúry HepG2	Upregulácia aktivity mitochondriálnej aj AMPK/SIRT1 dráhy.
Rafiei H. a kol. (2017) [144]	HepG2 bunková línia	Fluorescenčná analýza pre analýzu reaktívnych foriem kyslíka. Účinky rôznych polyfenolov proti stresovej oxidačnej reakcii.
Liu Y. (2017) [145]	Bunkové kultúry HepG2	Downregulácia dráhy FXR/SREBP-1c/FAS.
Brusq JM. a kol. (2006) [146]	Bunkové kultúry HepG2	Aktivácia dráhy AMPK.

Tabuľka 4. In vitro predklinické štúdie účinkov Berberine na dráhy NAFLD.

Nedávne štúdie uskutočnené na experimentoch na zvieracích modeloch a rôznych typoch bunkových kultúr ukázali, že BBR moduluje metabolizmus lipidov a má antisteatotické a protizápalové účinky. Štúdie na rôznych experimentálnych modeloch opísali účinky BBR na viaceré dráhy zapojené do progresie k NAFLD a hlavné z nich zahŕňajú aktiváciu dráhy SIRT3, upreguláciu SIRT1, aktiváciu dráhy AMPK, potlačenie dráhy NLRP3 a pôsobia ako PPAR-Y agonista (obrázok 4).

Ako sme zistili, BBR hrá komplexnú úlohu, pokiaľ ide o moduláciu rôznych metabolických procesov, a prostredníctvom štúdií, ktoré sme analyzovali, sa ukázalo, že BBR má aj rôzne farmakologické účinky. Existujúca literatúra pozostáva z rôznych experimentálnych modelov od rôznych druhov potkanov a myši až po rôzne bunkové kultúry. Keď hovoríme o pokusoch na zvieratách, ukázalo sa, že BBR znižuje antropomorfné vlastnosti hlodavcov, zlepšuje kontrolu metabolizmu lipidov a glukózy a zameriava sa na zápal moduláciou rôznych génov a dráh zapojených do stresovej oxidačnej reakcie. Okrem toho sa v bunkových kultúrach preukázalo, že BBR má účinnú anti-steatotickú vlastnosť, ktorá ukazuje zníženie akumulácie lipidov alebo zlepšenie zmien indukovaných NAFLD v rôznych bunkových líniách. V posledných rokoch sa vedci snažili nájsť vzťah medzi rôznymi zápalovými cestami a ich príspevkom k progresii NAFLD. Niektoré štúdie, ktoré sme analyzovali, zistili, že mitochondrie môžu hrať významnejšiu úlohu v oxidačnej reakcii na stres, ako bolo známe. Xu X. a kol. (2019), Sun Y. a kol. (2017), Rafiei H. a kol. (2017) a Teodoro JS. a kol. (2013) svojim výskumom dokázali, že BBR moduluje esenciálne podjednotky mitochondriálneho respiračného komplexu, najmä I a III mitochondriálne respiračné reťazce, a tým sa im podarilo znížiť hladiny ROS a znížiť zápal in vivo aj in vitro. Na lepšie pochopenie patofyziológie NAFLD je potrebné posúdiť, ako zmeny v rôznych druhoch črevnej mikrobioty podporujú akumuláciu tuku v pečeni. Analýza genómovej DNA črevnej mikrobioty sa ukázala byť oblasťou záujmu Chen D. a kol. (2023) a Zhou LM. a kol. (2023), Dai Y. a kol. (2022), Yang S. a kol. (2022), Li H. a kol. (2022), Cossiga V. a kol. (2021) a Shu X. a kol. (2021), ktorým sa podarilo odhaliť, že BBR nielen blokuje bakteriálnu translokáciu, ale tiež obnovuje rovnováhu črevnej mikrobioty stimuláciou prospešných baktérií v experimentoch na zvieracích modeloch, ako sú *Atopobiaceae*, *Brevibacterium*, *Christensenellaceae*, *Coriobacteriales*, *Papillibacter*, *Pygmaibacter*, *Rikenellaceae* a *teella* na zvieracích modeloch RC.

Ďalšou relatívne novou dráhou, ktorá sa zdá byť zapojená do patofyziológie NAFLD a ktorá bola nedávno študovaná, je dráha súvisiaca s génmi Clock a Bmal1, ktoré sa podieľajú na kontrole cirkadiálneho rytmu. Ye C. a kol. (2023) našli zaujímavú súvislosť medzi týmito génmi a liečbou BBR. Tieto gény sú dôležité pre metabolickú a redoxnú homeostázu; teda narušenie ich činnosti pôsobí ako spúšťač zápalovej reakcie. Po liečbe BBR znížením aktivity génov Bmal1 a Clock sa zápal znížil, a tak sa obnovila metabolická rovnováha rôznych molekulárnych reakcií. S pomocou všetkých týchto nových poznatkov v oblasti patológie NAFLD existuje nádej na nájdenie vhodnej liečby na prevenciu mnohých komplikácií spojených s týmto ochorením.

Diskusia

Chceme priniesť nové údaje, ktoré sme zhromaždili zo štúdií, ktoré sme analyzovali. V našom systematickom prehľade sme zahrnuli nové výsledky týkajúce sa použitia Berberine v NAFLD a jeho priaznivých účinkov na túto kategóriu pacientov; teda zahrňame nedávne štúdie týkajúce sa liečby BBR pri steatotickom ochorení pečene. Aj keď väčšina dôkazov založených na experimentoch na ľuďoch a zvieratách potrebuje ďalšie testovanie, BBR otvára novú perspektívu pre liečbu NAFLD.

Účinky berberínu v klinických štúdiách NAFLD

Vo svojej štúdií fázy 2 Harrison a spol. ukázali, že liečba BUDCA môže byť možnosťou liečby pacientov s NAFLD a inými charakteristikami metabolického syndrómu. Nielenže zistili významné zníženie obsahu tuku v pečeni po liečbe vysokými dávkami BUDCA, ale táto kombinácia berberínu a ursodeoxycholátu tiež významne ovplyvnila glukózový profil. Glykemický profil bol lepšie kontrolovaný vyššou dávkou liečby BUDCA, čo bolo vidieť na znížení priemerných hladín HbA1c v tejto skupine (dvakrát viac ako pri liečbe nízkou dávkou BUDCA, 0,6 % oproti 0,3 %). Neboli zistené žiadne zmeny hladín glukózy v krvi nalačno, HOMA-IR a inzulínu. Ukázalo sa, že liečba vysokými dávkami BUDCA má významný vplyv na chudnutie. Subjekty stratili viac ako dvojnásobok hmotnosti v porovnaní so subjektmi liečenými nižšou dávkou BUDCA (-3,5 % vs. -1,6 %, $p = 0,012$). Aj keď BUDCA mala významný vplyv na funkciu pečene, prekvapivo nenastala žiadna zmena v HDL-c a hladiny TG boli lepšie kontrolované nižšími dávkami BUDCA (pokles o 41 mg/dl v tejto skupine oproti 24 mg/dl pri liečbe 1000 mg BUDCA). Autori tiež uviedli, že vzorec, ktorý použili v tejto štúdií, HTD1801 (berberín ursodeoxycholát alebo BUDCA), sa odlišuje od týchto látok štruktúrou aj funkciou a je odlišný od iných skúmaných látok používaných pri liečbe NAFLD, ako je kyselina obeticholová ako agonista farnesoidného receptora X (FXR) žľčová kyselina, aramchol, inhibítor SCD-1 zacielený na pečeň a β agonista hormónu štítnej žľazy, resmetirom. Ďalším faktorom v dráhe patogenézy NAFLD je FGF-19, ktorý pôsobí ako hormonálny regulátor. Ako však ukázali Harrison et al., liečba BUDCA nemala významný vplyv na sérový FGF-19 alebo fibrotické indikátory, ako je propeptidový kolagén typu III (Pro-C3) a skóre Enhanced Liver Fibrosis (ELF).

V štúdií Yana a kol., hoci skupina BBR mala podobné zmeny v obsahu tuku v pečeni ako skupina s pioglitazónom (pozitívna kontrolná referencia pre túto štúdiu), berberínová kohorta vykazovala výrazne väčšie zníženie obsahu tuku v pečeni v porovnaní s tými v skupine LSI, spolu s výraznejším poklesom hladín glukózy v krvi, triglyceridov a cholesterolu. Navyše, podobné výsledky týkajúce sa homeostázy glukózy a hladín pečeneových enzýmov boli objavené medzi skupinou liečenou BBR a skupinou pioglitazónu, ale BBR bol účinnejší pri znižovaní telesnej hmotnosti a zlepšovaní profilu sérových lipidov.

Náhodne sa vybralo jedenásť subjektov a ich krv a moč sa ďalej testovali, aby sa vyhodnotila bezpečnosť a biologická dostupnosť BBR zo samotného LIS a zo skupín liečených BBR. Výsledky ukázali, že BBR vykazuje dobrú absorpciu a pokiaľ ide o sérový BBR a jeho metabolity, koncentrácia bola 50-krát nižšia v porovnaní s vychytávaním pečňou. To naznačuje, že BBR môže aktivovať rôzne pečňové gény zapojené do metabolizmu lipidov a glukózy.

V štúdiu Herrera et al. boli výsledky relevantné najmä pre zmeny v indexe telesnej hmotnosti, ktoré boli väčšie v skupine liečenej BBR, a nižšie hladiny triglyceridov, celkového cholesterolu a LDL-c v sére. lepší glykemický profil u týchto pacientov. Po 20 týždňoch liečby BBR nedošlo k žiadnym významným zmenám v ALT alebo AST. Je zaujímavé, že štúdia uvádza vplyv BBR na tumor nekrotizujúci faktor- α (TNF- α) a vysoko citlivý C-reaktívny proteín (hs-CRP).

V štúdiu Nejati et al. sa uvádza, že nielen hladiny sérových triglyceridov (TG) sa po liečbe BBR nezlepšili, ale aj hladiny TG sa znížili vo väčšej miere v kontrolnej skupine v porovnaní so skupinou liečenou BBR. . Okrem toho nebolo pozorované žiadne významné zníženie hladín celkového cholesterolu (TC) ani TG v žiadnej skupine ($p = 0,326$ a $p = 0,464$, v uvedenom poradí). Okrem toho sa ukázalo, že BBR významne neovplyvňuje profil pečňových enzýmov, glykémiu nalačno, telesnú hmotnosť a BMI u subjektov. Rozdiely medzi inými štúdiami s BBR ako intervenčným študijným činidlom sú formulácia a dávkovanie BBR v tejto štúdiu, keďže pacienti dostávali 6,25 g denne pripravenej varením 100 g sušenej BBR v 5 000 ml vody, kým sa objem neznížil na 4 000 ml. varu. Keďže biologická dostupnosť BBR závisí od formulácie, tento spôsob prípravy môže ovplyvniť koncentráciu a absorpciu BBR a vysvetliť výsledky štúdie.

Výskum uskutočnený Changom a kol. preukázali, že BBR znížil obsah tuku v pečeni, kvantifikovaný pomocou 1HMRS, o ďalších 7% v porovnaní s prípadmi, ktoré prešli iba zmenami životného štýlu. Obidve skupiny nemali štatisticky relevantné rozdiely týkajúce sa hladín pečňových enzýmov. BBR spôsobil výraznejšie zníženie HFC ako samotný LSI. Okrem toho bola liečba BBR spojená s významným zlepšením v mnohých oblastiach: zlepšenie antropomorfných znakov (nižšia telesná hmotnosť, menší obvod pásu, BMI – $p < 0,01$), zníženie tukovej záťaže pečene – $p < 0,01$; zlepšená glukózová homeostáza (nižšia hladina glukózy v krvi, lepšia kontrola metabolizmu glukózy – HbA1c – $p < 0,01$) a lepšia kontrola metabolizmu lipidov (nižšie sérové hladiny cholesterolu, triglyceridov, LDL-c, apoA/B, LP(a) – $p < 0,05$). Chang a spol. pozorovali, že BBR, prostredníctvom svojej schopnosti modulovať rôzne typy lipidov, mal podobné účinky, len so zmenami životného štýlu, na metabolizmus lipidov, s výnimkou ceramidov, ktoré boli ovplyvnené výlučne liečbou BBR. Keďže ceramidy sa podieľajú na patogénnych dráhach NAFLD, ich inhibícia môže zabrániť evolúcii NASH.

Citlivosť na inzulín sa zlepšila znížením viscerálneho a podkožného tukového tkaniva po liečbe BBR. Okrem toho sa HOMA-IR zlepšila aj u subjektov, ktoré podstúpili liečbu BBR. Na ďalšie testovanie týchto zistení medzi ľuďmi autori navrhli zvierací model s použitím diétou indukovaných obeznych myší. Liečba BBR bola tiež spojená so zmenami v hedom tukovom tkanive a termogenéze a zvýšeným výdajom energie, ako je znázornené na 18 F-FDG PET / CT. Okrem toho došlo aj k zlepšeniu metabolizmu glukózy v skupine zvieracích modelov.

Vo svojej štúdiu Cossiga V. a kol. (2019) sa pokúsili vyhodnotiť účinky rastlinných extraktov pozostávajúcich z Berberis aristata, Elaeis guineensis a Coffea canephora na pacientov s NAFLD. Na konci svojho experimentu vyhodnotili obsah tuku v pečeni meraním priemernej

CAP a zistili, že ošetrenie týmito rastlinnými extraktmi významne znížilo priemernú CAP z $291,6 \pm 39,2$ dB/m na $251,3 \pm 41,5$ dB/m s hodnotou $p < 0,01$. To ďalej dokazuje, že BBR by mohla byť účinnou liečbou stukovatenia pečene. Okrem toho došlo k významnému zlepšeniu metabolizmu glukózy v liečenej skupine v porovnaní so skupinou s placebom, čo dokazujú nižšie hladiny glukózy v krvi ($p < 0,001$), zlepšenie indexu HOMA-IR ($p < 0,001$), ako aj ako nižšie hladiny inzulínu ($p < 0,01$). Nezistili žiadne významné zmeny v profiloch pečenejších enzýmov a sérových lipidov. Celkovo možno povedať, že ich štúdia Cossiga V. a kol. ukázali, že BBR môže potenciálne uplatniť hepatoprotektívny účinok a zlepšiť homeostázu glukózy spojenú s NAFLD.

Ďalšia štúdia uskutočnená na pacientoch s NAFLD liečených BBR od Yan H. et al. (2021) skúmali účinky pioglitazónu, BBR a zmeny životného štýlu u mužov a žien. Ich výsledky ukázali, že intervencia pioglitazónu bola lepšia na zlepšenie metabolizmu lipidov aj glukózy, hlavne u žien; pokiaľ ide o obsah tuku v pečeni v skupinách liečených BBR, ženy vykazovali znížený obsah tuku v pečeni v porovnaní so skupinou s výlučne životným štýlom ($p = 0,020$), zatiaľ čo muži mali lepšiu odpoveď v skupine BBR v porovnaní so skupinou liečenou pioglitazónom ($p = 0,007$). Okrem toho sa ukázalo, že BBR nemá žiadnu významnú interakciu týkajúcu sa účinnosti a pohlavia medzi študovanými skupinami.

Pokiaľ ide o vedľajšie účinky, BBR sa ukázal ako relatívne bezpečný. Vo všetkých štúdiách na ľuďoch boli pacienti pravidelne hodnotení z bezpečnostných dôvodov a hnačka bola jednou z častých nežiaducich reakcií hlásených subjektmi. Iní sa sťažovali na nevoľnosť, anorexiu, dyspepsiú, bolesti brucha alebo distenziu, zápchu a hlavne gastrointestinálne symptómy. Celkovo nebola počas podávania zlúčenín Berberine pozorovaná žiadna život ohrozujúca reakcia.

Účinky berberínu a jeho mechanizmov - experimentálne modely

Využitie experimentálnych modelov môže byť obmedzené presnou reprezentáciou ľudských stravovacích charakteristík, ako je replikácia západnej stravy alebo škodlivá strava s vysokým obsahom tukov a sacharidov na zvieracích modeloch. Ďalším aspektom je, že BBR podlieha rýchlemu metabolizmu u potkanov a rýchlo dosiahne pečenejšie tkanivo. V nasledujúcich odsekoch sa pokúsime zhrnúť spôsoby pôsobenia BBR a jeho prospešné vlastnosti.

AMPK-kinázové cesty

Zhao J. a kol. dokázali vo svojej štúdiu, že BBR v kombinácii s metformínom prostredníctvom aktivácie dráhy AMPK dokázal znížiť produkciu prozápalových cytokínov. Okrem toho sa toto spoločné podávanie týchto činidiel ukázalo ako lepšie na zlepšenie steatózy a dyslipidémie. Li QP a kol. a Qiang a kol. tiež študovali aktiváciu dráhy AMP. Tam zistili, že oxy-berberín (OBB), metabolit BBR, a demetyl-berberín (DMB), analóg BBR, oba fungujú podobným spôsobom ako BBR prostredníctvom AMP-proteínkinázovej cesty. Účinky zahŕňali zlepšený profil pečene a sérových lipidov, histologické zlepšenie, zníženú reakciu na oxidačný stres a ochranu pred poškodením pečene. Okrem toho preukázali, že OBB bol lepší ako BBR, pokiaľ ide o jeho hepatoprotektívne vlastnosti a vlastnosti znižujúce lipidy.

Okrem toho sa ukázalo, že BBR aktiváciou dráhy AMPK znižuje expresiu SREBP-1c in vivo aj in vitro. SREBP-1c (transkripčný faktor sterolový regulačný element viažuci proteín-1c) je kľúčový proteín, ktorý podporuje sériu génov zodpovedných za produkciu mastných kyselín a ďalšie gény zapojené do homeostázy glukózy. Celkovo BBR zvyšuje aktivitu AMPK a ďalej sa ukazuje ako silné anti-steatotické činidlo, ktoré zvyšuje systémovú citlivosť na inzulín.

Črevná mikrobiota

Dysbióza je známa ako ďalší kľúčový faktor zapojený do patofyziológie a progresie NAFLD. Narušením črevnej bariéry sa veľké množstvo baktérií z čriev, bakteriálnych zložiek a rôznych iných podnetov dostane do portálneho toku, dostane sa do pečene a prípadne spustí zápalovú odpoveď. Okrem toho sa toto neustále vystavenie zápalu a veľkému množstvu prozápalových cytokínov bude podieľať na progresii NAFLD, akumulácii lipidov a fibróze.

V nedávnych štúdiách sa ukázalo, že BBR je prospešná pre zlepšenie narušenia črevnej mikrobioty a týmto spôsobom podporuje vznik špecifických baktérií. V iných štúdiách Dai Y. a kol., Yang S. a kol. a Chen D. a kol. zistili, že BBR sa môže čiastočne podieľať na obnove črevnej integrity, a tak má protizápalové účinky zameraním sa na bakteriálnu translokáciu. V inej štúdií Li H. a kol. zistili, že kombinácia BBR a bicyklolu zlepšila črevnú mikroflóru a zlepšila metabolizmus lipidov, čím sa prejavili hepatoprotektívne vlastnosti.

Sirtuíny

Viacere štúdie in vivo a in vitro našli rôzne cesty, prostredníctvom ktorých môže SIRT3 prospieť liečbe NAFLD. Xu X. a kol. ukázali, že mitochondriálna β -oxidácia bola zvýšená prostredníctvom dráhy SIRT3 po liečbe BBR, čo dokazuje, že BBR vykonáva lepšiu kontrolu metabolizmu lipidov a glukózy. Navyše v ich štúdií Teodoro JS. a kol. zistili, že BBR úplne obnovil mitochondriálnu aktivitu; preto upreguláciou SIRT3 došlo k nižšej syntéze ROS a BBR týmto spôsobom dokázal, že je účinným protizápalovým činidlom. Zhang YP. a kol. našli podobné výsledky. Ďalším sirtuínom, na ktorom nedávne štúdie ukázali, že BBR sa aktivuje, je sirtuín 1 (SIRT1). Wang P. a kol. a Rafiei H. a kol. dokázali, že upreguláciou expresie SIRT1 sa BBR podarilo zlepšiť zmeny indukované NAFLD, stimulovať oxidáciu mastných kyselín, zníženú intracelulárnu akumuláciu lipidov, ako aj modulovať mitochondriálne respiračné podjednotky. Preto BBR prostredníctvom SIRT1 aj SIRT3 vykazuje významné účinky na zníženie lipidov a protizápalové vlastnosti.

PPAR-Y

Nedávne štúdie uskutočnené na zvieracích experimentálnych modeloch ukázali, že BBR je účinným agonistom PPAR-Y. Vo svojom výskume Zhao W. a kol. ukázali, že BBR v kombinácii s inými rastlinnými extraktmi používanými v tradičnej čínskej medicíne upreguluje expresiu tohto receptora, čím má výrazný protizápalový účinok a zároveň je schopný zmierniť histologické zmeny, profil sérových lipidov a hladiny pečeňových enzýmov. V porovnaní s liečbou Rosiglitazónom, ktorú Zhao W. et al. použité na koreláciu výsledkov s výsledkami získanými po liečbe BBR. Ďalšie štúdie, ako napríklad Ragab SM a kol., ďalej dokazujú, že BBR má účinky na zníženie lipidov. Liečba BBR významne zvýšila expresiu PPAR-Y, čím sa zlepšil metabolizmus lipidov u potkanov indukovaných NAFLD.

Zápalové cesty

Zápalová odpoveď v dôsledku vysokých hladín prozápalových cytokínov v dôsledku vystavenia pečene zložkám odvodeným z čreva sa považuje za hlavnú príčinu rozvoja a progresie NAFLD. Ak sa tento zápalový stav zníži, mnohé zmeny spojené s NAFLD sa môžu zlepšiť. Zistilo sa, že BBR má viacero účinkov na rôzne zápalové dráhy, čo dokazuje, že môže byť silnou liečbou steatotického ochorenia pečene. Tieto zápalové dráhy zahŕňajú mitochondrie a oxidačný stres, nukleárny faktor Kappa B (NF-KB), NRLP3, dráhu nukleárneho faktora erytroidného 2 faktora (Nrf2) a ďalšie modulačné faktory.

Mitochondrie sú najdôležitejšou organelou zapojenou do energetického metabolizmu. Okrem syntézy ATP a respiračných reakcií sú mitochondrie zodpovedné aj za bunkovú diferenciáciu, proliferáciu, transdukciiu, autofágiu a apoptózu. Nedávne štúdie ukázali, že pôsobenie BBR na mitochondrie je sprostredkované rôznymi cestami. Xu X. a kol. zistili, že prostredníctvom

SIRT3 bola mitochondriálna β -oxidácia zvýšená u myší liečených BBR. Preto sa dosiahla lepšia kontrola metabolizmu lipidov. Okrem toho Sun Y. a kol. dokázali, že BBR prostredníctvom downregulácie expresie dráhy Nrf2/HO-1 dokázala znížiť hladiny reaktívnych foriem kyslíka najmä ovplyvnením respiračných reťazcov I a III.

Čo sa týka jeho protizápalových vlastností, Teodoro JS et al. ďalej preukázali, že upreguláciou expresie SIRT3 BBR úplne obnovil mitochondriálnu aktivitu. Podobne, ale tentoraz prostredníctvom dráhy AMPK/SIRT1, Raffei H. et al. zistili, že mitochondriálna aktivita bola zvýšená a rôzne proteíny zapojené do metabolizmu lipidov boli fosforylované, čo malo za následok antisteatotické, ako aj protizápalové účinky v modeli bunkovej kultúry. Dai Y. et al., Ye C. et al., a Deng Y. et al., vo svojich experimentoch na zvieratách a na bunke, ďalej zdôrazňujú antioxidantné vlastnosti BBR, čo dokazuje pokles hladín prozápalových cytokínov, zlepšenie histologického stavu pečene, hladiny a zlepšenie reakcie na oxidačný stres.

Zistilo sa, že jadrový faktor kappa B (NF- κ B), transkripčný faktor, ktorý sa podieľa na zápalovej kaskáde spojenej s NAFLD, je základným cieľom BBR. Zhao J. a kol. vo svojej štúdií dokázali, že kombinácia metformínu a BBR bola lepšia na zmiernenie steatózy a dyslipidémie u potkanov indukovaných NAFLD, pretože BBR dokázal inhibovať signalizáciu TLR4/NF κ B p65. Tým sa BBR podarilo zablockovať produkciu zápalových cytokínov. Podobné výsledky týkajúce sa zápalu získali aj Wang L. et al. a Chen Y. a kol. BBR modulovala zápalovú odpoveď in vivo aj in vitro prostredníctvom TLR4/NF κ B – nižšie hladiny TNF- α , IL-6, IL-1 β , zlepšenie histológie pečene, čo sa týmto spôsobom ukázalo ako účinné hepatoprotektívne činidlo.

Pyrínová doména rodiny NLR obsahujúca 3 je proteínový komplex, ktorý hrá rozhodujúcu úlohu v progresii steatotického ochorenia pečene a zápalovej odpovede spojenej s NAFLD. Bakteriálne alebo vírusové zložky, reaktívne formy kyslíka a mastné kyseliny môžu aktivovať zápal NRLP3, ktorý na oplátku stimuluje syntézu interleukínu-1b (IL-1b) a IL-18. Nedávne štúdie in vivo a in vitro zistili, že BBR významne inhibuje NRLP3, čím vyrovnáva reakciu na stres a má dôležité protizápalové vlastnosti. Navyše vo svojom výskume Zhang Y. a kol. zistili, že demetylén-tetrahydroberberín má lepšie účinky ako samotné BBR alebo DMB, pokiaľ ide o ich antioxidantné vlastnosti.

Ďalším mechanizmom, prostredníctvom ktorého funguje BBR, je nukleárny faktor erytroidný 2 súvisiaci faktor, regulátor bunkovej odpovede na oxidačný stres. Liečba BBR bola spojená so zníženými hladinami génov zapojených do zápalovej reakcie. Okrem toho, aktiváciou signálnej dráhy Nrf2/ARE, BBR prejavil protizápalové účinky moduláciou rôznych kľúčových génov spojených s odpoveďou na oxidačný stres.

Inhibíciou dráhy mitogénom aktivovanej proteínkinázy (MAPK) blokovala BBR zápal a angiogézu spojenú s NAFLD u myší indukovaných diétou s vysokým obsahom tukov (HFD) a vykazovala potenciálne protinádorové účinky, čo naznačuje, že môže pomôcť predchádzať hepatocelulárnemu karcinómu. Okrem toho He Q. a kol. dokázali, že BBR má významný účinok na zníženie lipidov in vivo aj in vitro, čo dokazuje indukcia autofágie pečene a zabránenie akumulácii pečenevých lipidov. Podobné účinky sa dosiahli po spoločnom podávaní BBR a sitagliptínu Mehrdoostom S. a kol. Tieto ďalej zdôrazňujú prospešné vlastnosti BBR proti NAFLD a jej komplikáciám.

Iné cesty

Proteíny cirkadiálnych hodín (clock a Bmal1) sú skupinou proteínov, ktoré sa považujú za zapojené do riadenia metabolickej rovnováhy. Predchádzajúce štúdie ukázali, že modifikácia

expresie týchto génov vedie k narušeniu rôznych molekulárnych a metabolických procesov, vrátane glukózovej a lipidovej homeostázy, čím sa dokázalo, že tieto proteíny sa podieľajú na patofyziológii rôznych ochorení, vrátane stukovatenia pečene. BBR významne zmierňuje oxidačný stres Clock/Bmal1, čo dokazuje, že môže hrať ochrannú úlohu obnovením rovnováhy cirkadiálneho rytmu a moduláciou lipidového, glukózového metabolizmu a zápalovej odpovede spojenej s NAFLD. Yang QH. a kol. zistili, že downregulácia mRNA UCP2 po liečbe BBR bola spojená s moduláciou zápalovej odpovede a metabolizmu lipidov u myši indukovaných NAFLD.

Adiponektín a angiopoetín podobný proteín 2 (ANGPTL2) sú dva proteíny vylučované adipocytmi a oba sa podieľajú na zápale. Zatiaľ čo v reakcii na zápal sa produkujú veľké množstvá (ANGPTL2), adiponektín zlepšuje zápalovú odpoveď moduláciou rôznych signálnych dráh. BBR signifikantne downreguloval syntézu prozápalových proteínov a cytokínov znížením expresie adipocytovej makrofágovej signálnej dráhy Angptl2 u potkanov indukovaných NAFLD.

Neutrofilný lipoproteín súvisiaci s gelatinázou (LCN2), ktorý je súčasťou rodiny lipokalínových transportných proteínov, je známy najmä svojou úlohou pri zápaloch. Nedávne štúdie ukázali, že pacienti s NAFLD majú vyššie hladiny LCN2 v sére, čo sa ukázalo ako potenciálny krvný marker na včasnú detekciu NAFLD. He H. a spol. zistili, že 8-cetylberberín (CBBR) nielenže dokázal modulovať rôzne gény zapojené do akumulácie lipidov, zápalu alebo steatózy, ale tiež znížil reguláciu dráhy LCN2 zmiernujúcej metabolické zmeny spojené s NAFLD, čo ukazuje, že možno BBR a jeho deriváty môžu byť zamerané na zápal a progresiu steatotického ochorenia pečene. V nedávnych štúdiách uskutočnených na zvieracích experimentálnych modeloch aj na bunkových kultúrach bol BBR schopný inhibovať voľné masťné kyseliny a zápalovú reakciu vyvolanú prítomnosťou LPS. Okrem toho sa ukázalo, že BBR znižuje produkciu TNF- α , IL-6, IL-1 β a MCP-1, čo sa ukázalo ako významné protizápalové účinky.

Ďalšie dráhy, o ktorých sa zistilo, že sú ovplyvnené liečbou BBR in vivo aj in vitro, sú signálna dráha chemerín/CMKLR1, dráha SIRT1-FoxO1-SREBP2, substrát inzulínového receptora-2 (ISR-2), FXR/FGF-15, L- pyruvátkináza (LK), aktivita fosfatidát-fosfohydrolázy, dráha SETD2 a expresia aktivity histónov rôznych génov zapojených do metabolizmu lipidov CPT-1, MTTP a LDLR. Podobné výsledky boli zistené v súvislosti so zlepšením metabolizmu glukózy a lipidov, zlepšením histologických zmien vyvolaných HFD, moduláciou črevnej mikrobioty, zmiernením zápalu pečene a znížením inzulínovej rezistencie.

Pokiaľ ide o ďalšie sekundárne výsledky, BBR bola väčšinu času spojená so zlepšením profilu pečenej enzýmov, profilu sérových lipidov, telesnej hmotnosti, zlepšením histologických zmien vyvolaných NAFLD, obnovením homeostázy lipidov a glukózy, ako aj lepšou kontrolou oxidačného stresu odpovedi, ako ukazuje pokles hladín prozápalových cytokínov. To všetko naznačuje, že BBR má dôležité hepatoprotektívne a protizápalové vlastnosti, čo otvára nové smery pre budúcu liečbu NAFLD. Nedávne štúdie, klinické aj experimentálne modely, ktoré sme zahrnuli do nášho systematického prehľadu, dokázali, že táto prírodná zlúčenina nielen moduluje metabolizmus lipidov, ale zameriava sa aj na mitochondriálnu aktivitu, zápalovú kaskádu a bakteriálnu translokáciu. V dôsledku toho BBR pôsobí na hlavné patofyziologické mechanizmy zapojené do NAFLD.

Závery

Sila a novosť našej recenzie spočíva v jej komplexnom prístupe. Ide o systematický prehľad zahŕňajúci klinické aj predklinické štúdie, dôkladne skúmajúci účinky Berberine na NAFLD. Väčšina literatúry, ktorú sme našli, zdôrazňuje priaznivé účinky BBR na metabolické a molekulárne reakcie zapojené do metabolizmu lipidov aj glukózy. Nedávne štúdie, ktoré sme skúmali v našom prehľade, navyše dokázali, že táto prírodná zlúčenina nielen moduluje metabolizmus lipidov, ale zameriava sa aj na mitochondriálnu aktivitu, zápalovú kaskádu a bakteriálnu translokáciu. Tým BBR pôsobí na hlavné patofyziologické mechanizmy zapojené do NAFLD.

V klinických štúdiách na ľudských subjektoch s diagnózou NAFL/NASH kvantifikačné metódy ukázali relevantné zníženie obsahu tuku v pečeni a zlepšenie sérových lipidov, hladín glukózy v krvi a pečňových enzýmov spojených so stratou hmotnosti. V experimentálnych modeloch sa Berberine podieľal na významných dráhach zabraňujúcich vývoju steatózy pečene. Hoci dostupné lieky sú vzácne alebo sú vo vývoji alebo v štádiu uvoľňovania, zdá sa, že BBR ponúka atraktívny profil, ktorý si vyžaduje zlepšenie formulácie, aby sa uľahčila biologická dostupnosť tejto prírodnej zlúčeniny.

Zdroj: Berberine Effects in Pre-Fibrotic Stages of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease—Clinical and Pre-Clinical Overview and Systematic Review of the Literature

Florentina Ionita-Radu, Cristina Patoni, Andreea Simona Nancoff, Flavius-Stefan Marin, Laura Gaman, Ana Bucurica, Calin Socol, Mariana Jinga, Madalina Dutu, Sandica Bucurica

Oddelenie gastroenterológie, Dr. Carol Davila Central Military Emergency University Hospital, 010242 Bukurešť, Rumunsko

Katedra biochémie, Univerzita medicíny a farmácie Carol Davila, 020021 Bukurešť, Rumunsko

Fakulta všeobecného lekárstva, Univerzita medicíny a farmácie Carol Davila, 020021 Bukurešť, Rumunsko

Oddelenie anestéziológie a intenzívnej medicíny, Univerzita medicíny a farmácie Carol Davila, 020021 Bukurešť, Rumunsko

Oddelenie anestéziológie a intenzívnej medicíny, Dr. Carol Davila Central Military Emergency University Hospital, 010242 Bukurešť, Rumunsko

<https://www.mdpi.com/1422-0067/25/8/4201>