

mgr inż. Aleksandra Tarasiuk,
Leon Pawlik,
prof. dr hab. n. med. Jakub
Fichna

Zakład Biochemii, Katedra Chemii i Biochemii
Medycznej Uniwersytet Medyczny w Łodzi

https://doi.org/10.18388/pb.2019_278

✉ autor korespondujący: jakub.fichna@umed.
lodz.pl

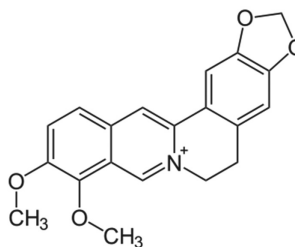
Słowa kluczowe: ostre zapalenie trzustki, le-
czenie ostrego zapalenia trzustki, berberyna,
tradycyjna medycyna chińska

Wykaz skrótów: BRB – berberyna; i.v. – in-
travenous (dożylnie), (m.c. – masa ciała MPO
– mieloperoksydaza, OZT – ostre zapalenie
trzustki, TMC – tradycyjna medycyna chińska

STRESZCZENIE

Berberyna (BRB) jest związkiem należącym do grupy izochinolinowych alkaloidów pochodzenia roślinnego od dawna wykorzystywanym w tradycyjnej medycynie chińskiej (TMC). Ze względu na m.in. właściwości przeciwzapalne BRB jest potencjalnym farmaceutykiem w leczeniu ostrego zapalenia trzustki (OZT). W badaniu na modelu indukowanego L-argininą OZT u myszy wykazaliśmy, że BRB podawana drogą dożylną w dawce 0.1 oraz 0.5 mg/kg m.c. istotnie obniża poziom aktywności mieloperoksydazy (wskaźnik stanu zapalnego) w trzustce i płucach. Obiecujące wyniki wskazują na potrzebę przeprowadzenia większych, zrandomizowanych badań w celu oceny skuteczności długoterminowej oraz skutków ubocznych terapii BRB.

Berberyna (BRB, IV-rzędowa sól amonowa protoberberyny) (Ryc. 1) to związek należący do grupy izochinolinowych alkaloidów pochodzenia roślinnego, występujący naturalnie w takich gatunkach roślin jak *Berberis vulgaris* (berberys), *Berberis aristata*, *Mahonia quifolium*, *Hydrastis canadensis*, *Coptis chinensis* i *Arangelisa flava*. Ze względu na swoją silną aktywność biologiczną BRB jest stosowana od wielu lat w tradycyjnej medycynie chińskiej (TMC) m.in. do zwalczania biegunek, zakażeń przewodu pokarmowego oraz innych chorób zakaźnych [1].

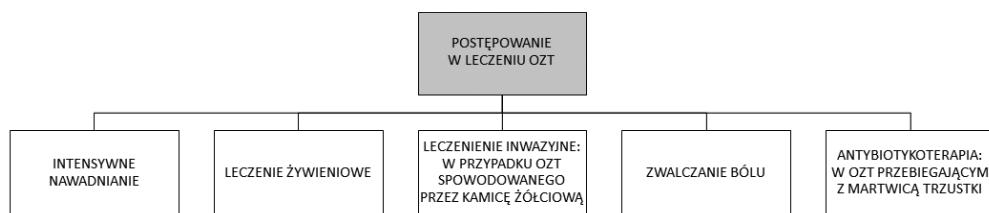


Rycina 1. Wzór chemiczny berberyny (źródło: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Berberin.svg>)

Wiele prac naukowych wskazuje na przeciwzapalne i przeciwnowotworowe działanie BRB [2-7]. Związek obniża również ciśnienie krwi [8-11] oraz poziom trójglicerydów i cholesterolu LDL [12]; ma właściwości przeciwcukrzycowe [13-15], antydepresyjne [16,17] oraz przeciwgrzybicze (przeciw *Penicillium*, *Candidia*, *Cryptococcus* i *Aspergillus*) [18] i przeciwprzywrotnicze (przeciw *Giardia lamblia*, *Trichomonas vaginalis*, *Leishmania donovani* i malarii odpornej na chlorochinę) [19,20].

Efekt przeciwzapalny BRB wynika z jej działania ochronnego na barierę nabłonkową w jelitach i regulacji transkrypcji cytokin prozapalnych takich jak: TNF- α , IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-8 i IFN- γ . BRB hamuje odpowiedź zapalną również m.in. poprzez aktywację kinazy aktywowanej 5'AMP w makrofagach, co w konsekwencji obniża ekspresję genów dla czynników prozapalnych oraz dla indukowalnej syntazy tlenku azotu (iNOS). Ponadto udowodniono, że w komórkach nowotworu jelita grubego (linia komórkowa DLD-1) BRB hamuje ekspresję genu COX-2, przez co jednocześnie obniża produkcję prostaglandyn i łagodzi stan zapalny [4,21].

Ostre zapalenie trzustki (OZT) jest ostrym stanem zapalnym powstałym na skutek przedwczesnej (tj. we wnętrzu komórki) aktywacji enzymów trzustkowych (głównie trypsyny), co w konsekwencji doprowadza do samostrawienia się komórek trzustki i może prowadzić do uszkodzenia zarówno otaczających, jak i odległych narządów i tkanek. Głównymi przyczynami OZT są choroby dróg żółciowych i pęcherzyka żółciowego oraz nadmierna konsumpcja alkoholu. Uszkodzenie komórek trzustkowych prowadzi do wzrostu produkcji i wydzielania mediatorów zapalnych, takich jak TNF- α i IL-1 β , które stymulują rozwój stanu zapalnego i napływ neutrofilów do trzustki. Odpowiedź zapalna może prowadzić do objawów wtórnych, m.in. hipowolemii, niewydolności



Rycina 2. Postępowanie w leczeniu OZT

nerek, niewydolność sercowo-naczyniowej, zespołu rozsiazanego wykrzepiania śródnaczyniowego lub krwawienia do prze-wodu pokarmowego [22,23]. Leczenie OZT może być inwazyjne lub zachowawcze. Leczenie inwazyjne jest zalecane głównie w przypadkach OZT spowodowanych przez kamice żółciową i w przypadkach ciężkiego OZT przebiegającego z zakażeniem martwicy trzustki. Leczenie zachowawcze polega na intensywnym nawadnianiu dożylnym, zwalczaniu ostrego bólu i leczeniu żywieniowym (po początkowym wstrzymaniu doustnych pokarmów). W przypadku zakażenia martwicy trzustki oraz zakażeń poza trzustką zalecana jest również antybiotykoterapia (Ryc. 2). Ze względu na wysokie ryzyko powikłań i utrzymującej się od wielu lat podobnej śmiertelności wśród pacjentów z OZT (2-9%) wciąż są poszukiwane są nowe leki, które umożliwiłyby lepszą kontrolę nad przebiegiem choroby.

Dotychczasowe badania wskazują, że dzięki właściwościom przeciwzapalnym BRB może być stosowana prewencyjnie w OZT. Dla przykładu, w mysim modelu OZT indukowanego przez dietę bezcholinową wzbogaconą w etioninę, w którym stosowano BRB przed wywołaniem OZT zaobserwowano zmniejszenie uszkodzenia struktury tkanki zarówno trzustki, jak i płuc, obniżenie poziomów amylazy i lipazy w surowicy, aktywności mieloperoksydazy (MPO) w trzustce oraz produkcji cytokin w porównaniu do myszy, które nie otrzymywały BRB. Dodatkowo podawanie BRB zahamowało aktywację NF- κ B oraz kinazy fosforylującej N-końcowy rejon białka c-Jun, które są zaangażowane w różnicowanie komórek i ich apoptozę [24].

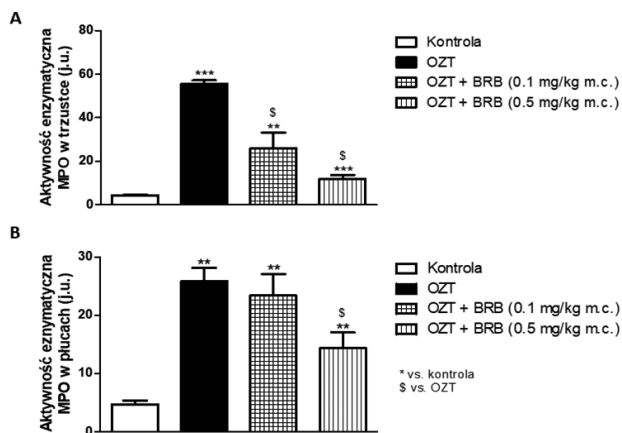
W celu określenia działania terapeutycznego BRB na stan zapalny trzustki przeprowadzono eksperyment z wykorzysta-

niem mysiego modelu OZT indukowanego 8% roztworem L-argininy. W tym celu wykorzystano samce myszy C57BL/6 w wieku 8-12 tygodni pozyskane ze Zwierzętarń Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Wszystkie procedury w doświadczeniu zostały zatwierdzone przez Lokalną Komisję Etyczną do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w

Łodzi (70/ŁB83/2017) w dn. 04.12.2017 roku. Zwierzęta podzielono na 4 grupy badawcze: 1) grupę kontrolną otrzymującą 0,9% roztwór NaCl dożylnie (*i.v.*) w obj. 100 μ L, 2x dziennie (n=8); 2) grupę OZT (n=8); 3) grupę OZT + 0.1 mg/kg masy ciała (*m.c.*) *i.v.* BRB; obj. 100 μ L, 2x dziennie (n=8) oraz 4) grupę OZT + 0.5 mg/kg *m.c.* *i.v.* BRB; obj. 100 μ L, co 12h (n=8). Indukcja OZT polegała na unieruchomieniu myszy, a następnie aplikowaniu im dootrzewnowo roztworu L-argininy w dawce 4 g/kg *m.c.* Po indukcji OZT zwierzęta umieszczano z powrotem w klatkach, gdzie otrzymywały standardową pełnoporcjową paszę bytową oraz wodę pitną *ad libitum*. Po godzinie zwierzętom aplikowano drugą dawkę roztworu L-argininy w takiej samej dawce. Próba kontrolna otrzymywała dootrzewnowo tylko roztwór soli fizjologicznej. Po 12 godzinach od indukcji OZT myszom z grupy 3 i 4 podawano BRB zgodnie ze schematem przedstawionym wyżej. Myszy były codziennie ważone i monitorowane w celu określenia klinicznych objawów OZT. Po 72 godzinach od indukcji OZT myszy poddawano eutanazji w celu pobrania tkanek z płuc i trzustki. Następnie zmierzono poziom MPO w trzustce i płucach (Ryc. 3).

Dotychczasowe badania na temat wpływu BRB na przebieg OZT u myszy skupiały się na jej właściwościach protekcyjnych. W badaniach tych dowiedziono, że BRB podawana przed indukcją OZT obniża poziom MPO, TNF- α , iNOS i IL-1 β oraz IL-6, co czyni ją potencjalnym lekiem do stosowania prewencyjnego w OZT [25]. W naszym eksperymencie wykazaliśmy po raz pierwszy, że BRB w dawce 0.1 oraz 0.5 mg/kg *m.c.* podawana dożylnie łagodzi stan zapalny w trzustce w mysim modelu OZT. Wyniki eksperymentu sugerują, że BRB może stać się terapeutycznym wspomagającym leczenie tej choroby.

Surowce roślinne stosowane w TMC są od dawna znane w Europie, a niektóre uznano za substancje farmakopealne – chociażby korzeń rzewienia, korzeń żeń-szenia czy kwiat goździkowca. Nad standaryzacją innych trwają prace prowadzone przez grupę roboczą TMC Komisji Farmakopei Europejskiej. Preparaty berberyne znalazły zastosowanie jako leki w TMC oraz jako suplementy diety. Suplementy zawierające BRB stosowane są głównie przez sportowców oraz osoby, którym zależy na wsparciu gospodarki cukrowej oraz lipidowej. Niemniej jednak BRB jest wciąż przedmiotem badań przedklinicznych i klinicznych, mających na celu wprowadzenie jej do nowoczesnej medycyny. Należy podkreślić, że BRB ze względu na niską biodostępność w układzie pokarmowym wymaga podawania jej w dużych dawkach, które mogą podnosić poziom bilirubiny we krwi. Ponadto, BRB charakteryzuje się krótkim okresem półtrwania i powinna być przyjmowana regularnie w równych dawkach. Dlatego



Rycina 3. Aktywność mieloperoksydazy (MPO) w trzustce (A) oraz w płucach (B) po 72 godzinach od podania i.p. 8% roztworu L-argininy w zależności od grupy badanej.


też w badaniach klinicznych najczęściej można spotkać się z 3 podaniami doustnymi po 300-500 mg dziennie, tj. od 900 do 1500 mg BRB na dobę (przy m.c. 70 kg). Tymczasem otrzymane przez nas wyniki wskazują, że BRB już w dawce 14-70 mg (dla pacjenta o m.c. 70 kg) na dobę, w podaniu dożylnym może łagodzić stan zapalny w trzustce. Podanie dożylnie znacząco zwiększa zatem biodostępność BRB, a jednocześnie pozwala zmniejszyć akumulację alkaloidu w wątrobie i mięśniach sercowym i jego niekorzystny wpływ na te narządy.

Dalsze badania nad działaniem leczniczym BRB wymagają oceny jej skuteczności w perspektywie długoterminowej oraz możliwych skutków ubocznych terapii. Potrzeba zatem dużych i dobrze zaprojektowanych randomizowanych badań, aby móc w pełni scharakteryzować, a następnie wykorzystać potencjał BRB. Niemniej jednak, jak sugerują wieloletnie doświadczenia TMC i otrzymane przez nas wyniki, BRB może stać się skutecznym i bezpiecznym lekiem stosowanym z powodzeniem do zapobiegania i leczenia OZT.

REFERENCE

1. Zhu ZX, Li X-Y, Liu J (2004) Recent pharmacological studies on natural products in China. *Eur J Pharmacol* 500: 221-230
2. Zou K, et al. (2017) Advances in the study of berberine and its derivatives: a focus on anti-inflammatory and anti-tumor effects in the digestive system. *Acta Pharmacol Sin* 38: 157-167
3. Sun Y, Xun K, Wang Y, Chen X (2009) A systematic review of the anti-cancer properties of berberine, a natural product from Chinese herbs. *Anticancer Drugs* 20: 757-769
4. Jeong HW, et al. (2009) Berberine suppresses proinflammatory responses through AMPK activation in macrophages. *Am J Physiol Metab* 296: E955-E964
5. Szeto S, Yow CMN, Fung KW (2002) Characterization of berberine on human cancer cells in culture. *Turkish J Med Sci* 32: 363-368
6. Lin TH, Kuo HC, Chou FP, Lu FJ (2008) Berberine enhances inhibition of glioma tumor cell migration and invasiveness mediated by arsenic trioxide. *BMC Cancer* 8: 58
7. Mantena SK (2006) Berberine, a natural product, induces G1-phase cell cycle arrest and caspase-3-dependent apoptosis in human prostate carcinoma cells. *Mol Cancer Ther* 5: 296-308
8. Chun YT, Yip TT, Lau KL, Kong YC, Sankawa U (1979) A biochemical study on the hypotensive effect of berberine in rats. *Gen Pharmacol* 10: 177-182
9. Fatehi-Hassanabad Z, Jafarzadeh M, Tarhini A, Fatehi M (2005) The antihypertensive and vasodilator effects of aqueous extract from *Berberis vulgaris* fruit on hypertensive rats. *Phyther Res* 19: 222-225
10. Bin C, Lai-yuan L, Da-chao F, Ming-xing J (1987) Cardiovascular aspects of pharmacology of berberine: I. α -adrenoceptor blocking action of berberine in isolated rat anococcygeus muscle and rabbit aortic strip. *J Tongji Med Univ* 7: 239-241
11. Kang DG, Sohn EJ, Kwon EK, Han JH, Oh H, Lee HS (2002) Effects of berberine on angiotensin-converting enzyme and NO/cGMP system in vessels. *Vascul Pharmacol* 38: 281-286
12. Kong W, et al. (2004) Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. *Nat Med* 10: 1344-1351
13. Zhou J, et al. (2009) Protective effect of berberine on beta cells in streptozotocin- and high-carbohydrate/high-fat diet-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 606: 262-268
14. Kong WJ, et al. (2009) Berberine reduces insulin resistance through protein kinase C-dependent up-regulation of insulin receptor expression. *Metabolism* 58: 109-119
15. Yin J, Xing H, Ye J (2008) Efficacy of berberine in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 57: 712-717
16. Peng WH, Lo KL, Lee YH, Hung TH, Lin YC (2007) Berberine produces antidepressant-like effects in the forced swim test and in the tail suspension test in mice. *Life Sci* 81: 933-938
17. Kulkarni SK, Dhir A (2008) On the mechanism of antidepressant-like action of berberine chloride. *Eur J Pharmacol* 589: 163-172
18. Tillhon M, Guamán Ortiz LM, Lombardi P, Scovassi AI (2012) Berberine: New perspectives for old remedies. *Biochem Pharmacol* 84: 1260-1267
19. Vuddanda PR, Chakraborty S, Singh S (2010) Berberine: a potential phytochemical with multispectrum therapeutic activities. *Expert Opin Investig Drugs* 19: 1297-1307
20. Sheng WD, Jiddawi MS, Hong XQ, Abdulla SM (1997) Treatment of chloroquine-resistant malaria using pyrimethamine in combination with berberine, tetracycline or cotrimoxazole. *East Afr Med J* 74: 283-284
21. Fukuda K, Hibiya Y, Mutoh M, Koshiji M, Akao S, Fujiwara H (1999) Inhibition by berberine of cyclooxygenase-2 transcriptional activity in human colon cancer cells. *J Ethnopharmacol* 66: 227-233
22. Hammad AY, Ditillo M, Castanon L (2018) Pancreatitis. *Surg Clin North Am* 98: 895-913
23. Manohar M, Verma AK, Venkateshaiah SU, Sanders NL, Mishra A (2017) Pathogenic mechanisms of pancreatitis. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 8: 10-25
24. Choi SB, Bae GS, Jo IJ, Song HJ, Park SJ (2017) Effects of berberine on acute necrotizing pancreatitis and associated lung injury. *Pancreas* 46: 1046-1055
25. Choi S-B, Bae G-S, Jo I-J, Wang S, Song H-J, Park S-J (2016) Berberine inhibits inflammatory mediators and attenuates acute pancreatitis through deactivation of JNK signaling pathways. *Mol Immunol* 74: 27-38

Berberine as a potential therapeutic agent in the treatment of acute pancreatitis

Aleksandra Tarasiuk, Leon Pawlik, Jakub Fichna 

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Medical University of Lodz, Poland

✉ corresponding author: jakub.fichna@umed.lodz.pl

Key words: acute pancreatitis, acute pancreatitis treatment, berberine, traditional chinese medicine

ABSTRACT

Berberine (BRB) is a compound belonging to the group of isoquinoline alkaloids of plant origin that has long been used in traditional Chinese medicine (TMC). Due to, among others anti-inflammatory properties BRB is a potential therapeutic in the treatment of acute pancreatitis (OZT). In a study in the mouse model of L-arginine-induced acute pancreatitis, we showed that BRB administered by the intravenous route at 0.1 and 0.5 mg/kg body weight significantly reduces the level of myeloperoxidase activity (an indicator of inflammation) in the pancreas and lungs. Promising results point to the need for larger, randomized studies to assess the long-term efficacy and side effects of BRB therapy.