

Autofagie čili „sebepožírání“

(látky stimulující autofagii - povzbuzující výsledky v terapii civilizačních chorob)

HISTORIE OBJEVU AUTOFAGIE

Termín „autofagie“ zavedl belgický cytolog a biochemik Christian René Marie Joseph de Duve, nositel Nobelovy ceny za fyziologii a lékařství (1974). Tento pojem použil na sympoziu nadace CIBA o lysosomech v roce 1963. De Duve již v roce 1955 pozoroval lysozomy v jaterních buňkách potkana. Ačkoli autofagie byla původně odhalena u savců, později byla objevena u široké palety živých organismů. Snadno se autofagie testovala u kvasinek, a tak i nejvíce prací bylo prováděno na kvasinkách. Molekulární základ autofagie byl poprvé spojen s lidskými nemocemi v americké laboratoři Beth Levine (<https://www.leducq-autophagy.org/levine-lab>) a následně řada studií odhalila souvislosti mezi autofagií a patofyziologickými stavy, jako jsou patogenní infekce, neurodegenerace a také vysvětlení klíčové role autofagie v bu-

něčném růstu a buněčné smrti. Krásný přehled o autofagii u kvasinek, za kterou dostal japonský vědec Yoshinori Ohsumi Nobelovu cenu za fyziologii a medicínu v roce 2016 je v archivu ČT v pořadu Hyde park civilizace moderovaný Danielem Stachem: <https://www.ceskatelevize.cz/porady/10441294653-hyde-park-civilizace/217411058091125/>

CO TO JE AUTOFAGIE?

Termín autofagie pochází z řeckého slova „autóphagos“ a znamená „jíst sama sebe“. Jedná se o zcela přirozený proces, při kterém se buňky zbavují přebytečných nebo nefunkčních komponent. Během autofagie hrají ústřední roli lysozomy. Jedná se o membránou ohraničené organely nacházející se uvnitř buňky. Vyznačují se vysokým obsahem enzymů, které jsou schopné rozkládat intra- a extracelulární materiál a zbit buňky přebytečných či



PharmDr. Milan Krajčůek,
K2Pharm s.r.o., Opava



RNDr. Anežka Adamcová, Ph.D.

nefunkčních komponent. Více odborněji tak lze autofagii nazvat mechanismem, během kterého dochází k lysozomální degradaci buněčného materiálu. Autofagie se uplatňuje při adaptaci ve stresových podmínkách (například nadměrná akumulace nefunkčních organel a proteinů, hypoxie a nedostatek živin) a rovněž i u nádorových onemocnění, kde indukuje buněčnou smrt¹.

Autofagii lze rozdělit na 3 typy (makroautofagie, mikroautofagie a autofagie zprostředkovaná chaperony). Při mikroautofagii část lysozomální membrány invaginuje, vytvoří se endozom, který pohltí buněčný obsah určený k degradaci. Makroautofagie je charakterizována tvorbou autofagozomu, což je organela s membránami schopná fúzovat s lysozomem. Takto se k autofagozomu dostanou lysozomální enzymy a dochází k degradaci obsahu autofagozomu, který obsahuje například poškozené či nefunkční organely. Klíčovou roli v autofagii zprostředkované chaperony hraje heat shock protein 70 (hsp70), tedy cytosolický chaperon, který je schopen rozpoznat

Obrázek 1 Látky stimulující autofagii

Látka	Princip účinnosti
Rapamycin	mTOR inhibitor
Dexamethason	mTOR inhibitor
Everolimus	mTOR inhibitor
Temsirolimus	mTOR inhibitor
Simvastatin	mTOR inhibitor
Kurkumin	mTOR inhibitor
Metformin	mTOR inh/AMPK akt.
Etezimib	AMPK aktivátor
Trehalóza	AMPK aktivátor
Resveratrol	AMPK aktivátor
Vitamín D	AMPK aktivátor
Spermidin	EP300 inhibitor
Karbamazepin	IP3 inhibitor
Valproát sodný	IP3 inhibitor
Soli lithia	IP3 inhibitor
Amiodaron	TFEB aktivátor
Molekulární vodík	Modulátor
Sirovodík (sulfan) a jeho prekurzory	Modulátor

specifický pentapeptid v aminokyselinovém řetězci poškozených a nefunkčních proteinů a dopravit ho k lysozomu ¹.

Poruchy autofagie (také dysregulace) jsou spojovány s řadou onemocnění. Uvést můžeme například neurodegenerativní a nádorová onemocnění, diabetes, onemocnění jater, autoimunitní onemocnění či infekce ¹.

INDUKCE AUTOFAGIE ANEB POMOC ZVENČÍ

Autofagii lze aktivovat několika způsoby. Jedná se zejména o příjem vhodných rostlinných extraktů s obsahem fenolických látek (například kurkuminoidy), spánek, přerušované půsty, cvičení a některá léčiva (například metformin).

Jako první látku stimulující autofagii můžeme uvést kurkumin, který je hlavním kurkuminoidem nacházejícím se v oddenku kurkumy dlouhé (*Curcuma longa*). Oddenky mají typickou nahořklou hřejivou chuť (jejich konzumace je velmi přírodná v zimním období) a na řezu jsou výrazně oranžově zbarvené ².

V rámci studie bylo zjištěno, že v poškozených nervech je míra autofagie snížena. Pro ověření byl zvolen in vivo experiment na potkanech s poškozeným sedacím nervem. Potkanům byl intraperitoneálně podáván kurkumin v dávce 100 mg/kg za den. Po 4 dnech terapie byla pomocí

Western blot metody porovnána exprese proteinů specifických pro proces autofagie v buňkách poškozeného nervu. Kurkumin signifikantně zvýšil expresi proteinů LC-3II a Beclin 1, naopak snížil expresi proteinu p-62. Uvedené proteiny LC-3II a Beclin 1 jsou považovány za indikátory autofagie. Je také známo, že se protein p-62 v buňkách hromadí, jestliže je proces autofagie potlačený ³.

Po aplikaci kurkuminu byla pozorována vyšší míra autofagie a zastavení progresu některých nádorových buněk (například u karcinomu dutiny ústní, slinivky břišní, žaludku, prsu). Rovněž byl prokázán synergický účinek s některými léčivy (například tamoxifen využívající se u terapie rakoviny prsu) ⁴.

Kurkumin je běžnou součástí kořenících směsí (kari) určených do omáček, polévek a čaje nebo jej lze koupit ve formě doplňku stravy.

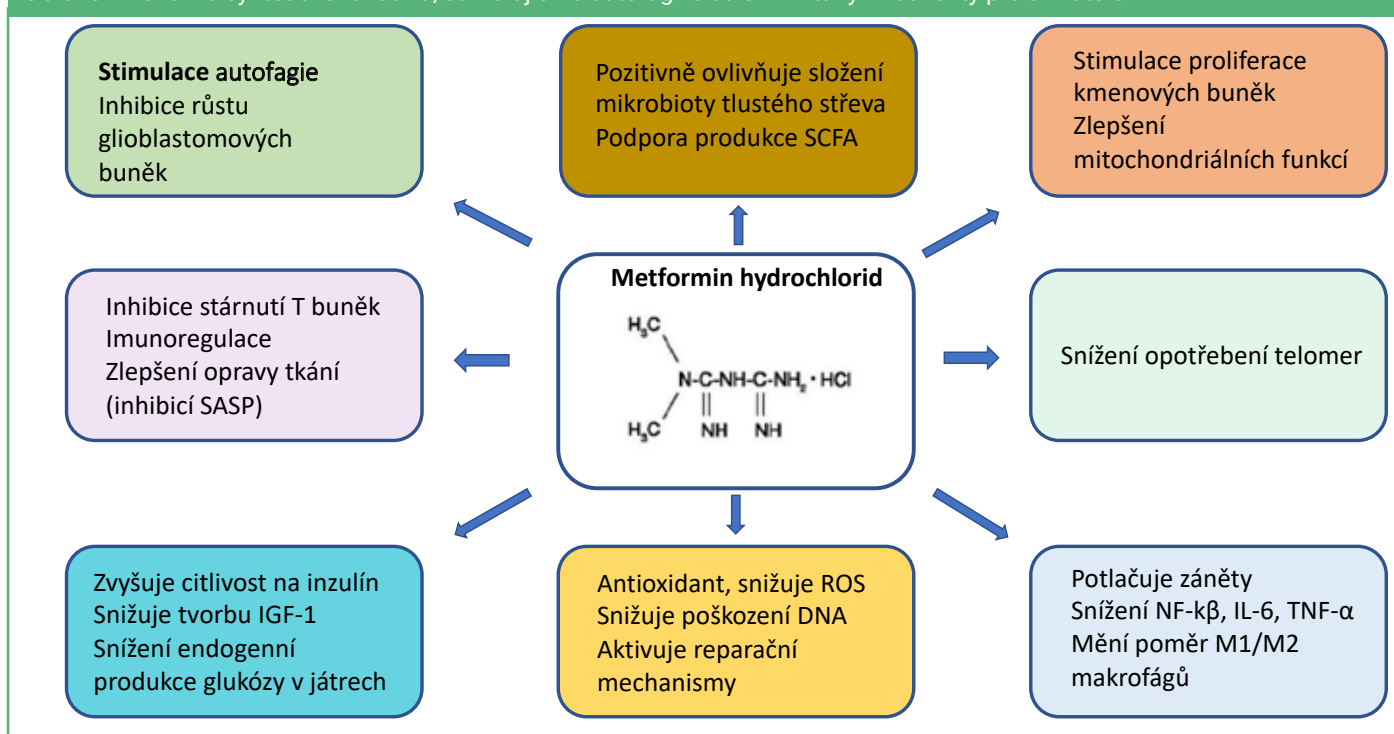
Poznámka autorů: V oblasti doplňků stravy je vhodné vybírat takový, který zároveň obsahuje přísadek piperinu. Samotný kurkumin je totiž znám pro svou velmi nízkou biologickou dostupnost, a to díky first-pass efektu (tzn. první průchod játry), kde se v játrech velká část metabolizuje a jen malá (nemetabolizovaná) část se dostane do oběhu. Proto se doporučuje přísadek piperinu (z pepře), který inhibuje zmíněný jaterní metabolismus.

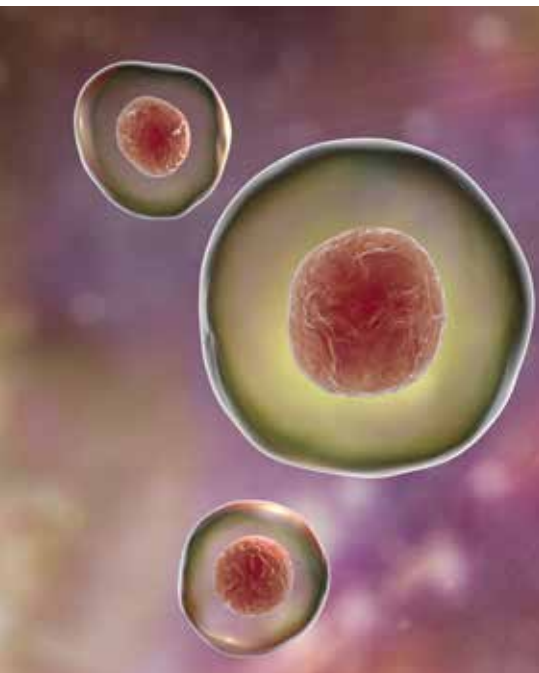
Další látkou, která je schopná indukovat autofagii je trehalóza. Jedná se o disacharid složený ze dvou molekul glukózy. Přirozeně se vyskytuje v bakteriích, kvasinkách, hmyzu, rostlinách a zvířatech. Hojně se využívá ve farmaceutickém, potravinářském a kosmetickém průmyslu. Vědecké studie spojují trehalózu s příznivými účinky u neurodegenerativních onemocnění, především u těch, které jsou charakterizovány kumulací patologických proteinů a se vznikem agregátů. Zmínit lze Alzheimerovu chorobu, u které trehalóza zabraňuje agregaci β -amyloidu. Dále pak i Parkinsonovu chorobu či Huntingtonovu choreu (je přítomen mutantní huntingtin) ⁵. Parenterální podávání je preferováno (trehalóza s nízkým obsahem endotoxinů), ale i perorální podávání dává velmi dobré terapeutické výsledky. Za minimální denní dávku se považují 3 gramy trehalózy.

CHEMICKÁ LÉČIVA VYVOLÁVAJÍCÍ AUTOFAGII

Lithium je léčivo používané k léčbě bipolárních poruch, má řadu neuroprotektivních mechanismů (včetně regulace autofagie). U neurodegenerativních onemocnění lithium zvyšuje degradaci proteinů náchylným k agregátům a též usnadňuje eliminaci poškozených mitochondrií. Lithium bylo a je úspěšně použito u Alzheimerovy choroby, Parkinsonovy choroby a u mnoha neuropsychických poruch. Látkou schopnou

Obrázek 2 Ukázka syntetického léčiva, stimulujícího autofagii s dalšími vítanými benefity pro uživatele





aktivovat autofagii je i běžně užívané antidiabetikum metformin. Kromě snižování hladiny cukru v krvi se využívá i při léčbě rakoviny slinivky a melanomu. Jeden z mechanismů metforminu je aktivace enzymu adenosinmonofosfát-aktivované proteinové kinázy (AMPK), čímž dochází k podpoře autofagie. Metformin byl také použit jako adjuvantní terapie u syndromu polycystických ovarii (PCOS), což je hormonální porucha u žen, která je mimo jiné charakterizována vyšší produkcí testosteronu a dochází k poruchám menstruačního cyklu. Studie ukázala, že metformin je schopen snižovat hladiny testosteronu prostřednictvím aktivace autofagie. Ke zvýšení aktivity autofagie se využívá i rapamycin, který inhibuje negativní regulátor autofagie – mTOR (mammalian target of rapamycin). Inhibitory mTOR se užívají k léčbě nádorů či po transplantaci orgánů ^{6,7}.

CVIČENÍ A TĚLESNÁ AKTIVITA

Energetický stres včetně cvičení stimuluje autofagii, přičemž cytosolické materiály jsou pohlceny dvoumembránovými vezikulami (autofagozomy) a transportovány do lysozomu, kde jsou degradovány. Degradované materiály jsou uvolňovány zpět do cytoplazmy pro energetický a proteinový metabolismus. V reakci na akutní cvičení funguje autofagie tak, že poskytuje substráty pro produkci energie a zůstává zvýšená hodiny po ukončení cvičení. Stále více důkazů naznačuje, že autofagie hraje ústřední roli v adaptacích a příznivých účincích cvičení. Práce na zvířecích modelech ukázala, že autofagie je nezbytná pro zvýšenou odolnost,

mitochondriální biogenezi, angiogenezi a přestavbu tkáně v kosterním svalu vyplývající z tréninku. Cvičení navíc stimuluje autofagii v mnoha tkáních, což ukazuje na globální odpověď.

Bylo prokázáno, že akutní cvičení vyvolává autofagii v řadě tkání včetně mozku, srdce, tukové tkáně, pankreatických β buněk, jater, kosterního svalstva a mononukleárních buněk periferní krve, což naznačuje akutní globální reakci. Tato rozšířená autofagická reakce může být základem pozitivních účinků, které cvičení vyvolává v mnoha tkáních.

KALORICKÁ RESTRIKCE

Omezení příjmu energie (stravy) prokazatelně indukuje autofagii. A její výsledky jsou více viditelné s rostoucím věkem. Naprostá převaha testů proběhla na zvířatech a mezi rekordmany patří hlístice a nižší živočichové (prodloužení života o třetinu, v některých případech i více). Mezi uznávané mechanismy účinků patří ochrana před hypoxií, redukce oxidačního stresu, restrikce příjmu aminokyseliny methioninu. Velmi populární je v poslední době i tzv. intermitentní hladovění. Podávání stravy 2x denně jak u zvířat, tak u lidí dává působivé výsledky. Z českých prací stojí za pozornost práce na IKEM, kde diabetikům druhého typu podávali stravu 2x denně a dosáhli nejen kýženého snížení tělesné hmotnosti, ale postupně se diabetickým pacientům zvyšují šance na nižší potřebu inzulínu. Studii vedla profesorka MUDr. Terezie Pelikánová, DrSc. společně s lékařkou centra diabetologie IKEM MUDr. Hanou Kahleovou, Ph.D.

MOLEKULÁRNÍ VODÍK - KOUZLO MODULACE AUTOFAGIE

Jen málo látek má schopnost autofagii nejen podporovat, ale za určitých stavů ji i inhibovat. Pak ji nazýváme modulací. Molekulární vodík je asi jediným zástupcem, který je modulátorem autofagie a umí tak obojí. Na jedné straně může molekulární vodík stimulovat specifickou doménu nesoucí nukleotid a inhibovat NLRP3 v makrofázích (jež je součástí vrozeného imunitního systému k rozpoznávání vzorů) a stimulovat tak intracelulární obnovu.

Na druhou stranu je u některých patologických stavů autofagie na závalu a je vhodné ji inhibovat. U některých bakteriálních plicních infekcí je autofagie nesmírně aktivovaná díky produkovanému

množstvím lipopolysacharidu (LPS) a podáváním molekulárního vodíku dochází k inhibici autofagie a zlepšení stavu postižených (účinná je jak inhalace vodíku, tak popíjení nasycené vody). Podobně u poranění mozku přispívá vodíková terapie k inhibici autofagie, která zvyšuje přežití endoteliálních buněk v mikrocirkulačním lůžku mozkové tkáně.

ZÁVĚR

Mějme tedy na paměti, že i ve zdravém těle se buňky vlivem mnoha faktorů neustále poškozují a je to zcela přirozená součást metabolických procesů. Během stárnutí a stresu se potýkáme se stále větším množstvím poškozených buněk. Právě autofagie dopomáhá k vytváření nových a zdravých buněk, čímž přispívá k udržení buněčné homeostázy (stálosti vnitřního prostředí). Ale i u autofagie platí, že její rozumná míra a mírná stimulace má ochrannou roli, ale nadměrná indukce může být škodlivá.

Literatura

- ¹ Glick, D.; Barth, S.; Macleod, K.F. Autophagy: cellular and molecular mechanisms. *J Pathol* 2010, 221, 3-12. doi:10.1002/path.2697
- ² EDITOŘI ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA. Kurkuma. Dostupné online: <https://www.britannica.com/plant/turmeric> (citace dne 22. leden 2024)
- ³ Zhao Z., Li X., Li Q. Curcumin accelerates the repair of sciatic nerve injury in rats through reducing Schwann cells apoptosis and promoting myelination. *Biomed Pharmacother* 2017, 92, 1103-1110, doi: 10.1016/j.biopha.2017.05.099.
- ⁴ Shakeri, A.; Cicero, A. F. G.; Panahi, Y.; Mohajeri, M.; Sahebkar, A. Curcumin: A naturally occurring autophagy modulator. *J Cell Physiol* 2019, 234, 5643-5654. <https://doi.org/10.1002/jcp.27404>
- ⁵ Sarkar, S., Davies, J. E., Huang, Z., Tunnacliffe, A., & Rubinsztein, D. C. Trehalose, a novel mTOR-independent autophagy enhancer, accelerates the clearance of mutant huntingtin and alpha-synuclein. *J Biol Chem* 2007, 282, 5641-5652. <https://doi.org/10.1074/jbc.M609532200>
- ⁶ Lu, G.; Wu, Z.; Shang, J.; Xie, Z.; Chen, C.; Zhang, C. The effects of metformin on autophagy. *Biomed Pharmacother* 2021, 137, 111286. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111286>
- ⁷ Lin, X.; Han, L.; Weng, J.; Wang, K.; Chen, T. Rapamycin inhibits proliferation and induces autophagy in human neuroblastoma cells. *Biosci Rep* 2018, 38, BSR20181822. <https://doi.org/10.1042/BSR20181822>