

Miesto silymarínu v liečbe alkoholového poškodenia pečene

L. Vavrušová

Súhrn

Z mnohých experimentálnych prác vieme, že oxidačný stres hrá významnú úlohu pri vzniku a progresii alkoholového poškodenia pečene, a preto by sme sa chceli zamerať aj na akceptovateľnú antioxidantnú liečbu tohto stavu. Tak ako sa prehĺbujú znalosti o mechanizmoch, ktorými oxidačný stres v súvislosti s konzumom alkoholu poškodzuje pečeň, liečba pôsobiaca na celulárnej a molekulárnej úrovni môže zlepšiť klinický obraz. Kľúčovými zostávajú otázky: Ktoré prooxidanty sa podieľajú na alkoholovom poškodení pečene? Čo je zdrojom prooxidantov v pečeni pri expozícii alkoholu? Ako sa oxidanty podieľajú na alkoholovom poškodení pečene? Máme racionálnu a účinnú antioxidantnú liečbu pre liečbu alkoholového poškodenia pečene?

Kľúčové slová

alkoholové poškodenie pečene – oxidačný stres – antioxidantná liečba – silymarín

Summary

The role of silymarin in the treatment of alcoholic liver disease. Experimental research work pointed out that oxidative stress has a key role in onset and progression of Alcohol Induced Liver Disease (ALD) and that is why we would like to focus on acceptable antioxidant treatment of ALD. The deeper is our knowledge on how oxidative stress together with trigger alcohol consumption harms the liver the better we can understand benefits of the available supportive treatment options. Key questions are: Which prooxidants are taking part in ALD? Do we have rationale and effective antioxidant treatment available for ALD?

Keywords

alcohol induced liver disease – oxidative stress – antioxidative treatment - silymarin

Vieme, že alkoholové poškodenie pečene vzniká v dôsledku konzumácie alkoholu a významnými premennými sú denná dávka konzumovaného alkoholu, dĺžka trvania abúzu, ale aj genetické faktory, pohlavie, komorbidity i vplyvy prostredia. Alkoholové poškodenie pečene postihuje milióny pacientov na celom svete a v poslednej dekáde je príčinou narastajúcej morbidity a mortality [1]. Prevalencia sa udáva 14,3/100 000 obyvateľov Francúzska a 7,9/100 000 obyvateľov USA [2,3]. Chorobný proces charakterizujú v jeho iničiálnych fázach steatóza, s jeho progresiou sa zvyrazňuje zložka zápalu a nekróza (v anglickej literatúre steatohepatitis), ktoré u časti pacientov napokon prechádzajú do fibrózy a cirhózy [4–7]. Pri vzniku a progresii ochorenia sú postihnuté nielen hepatocyty, ale aj imunitné bunky (Kupfferove bunky, lymfocyty a neutrofilly) a aktívované hviezdicovité bunky. Napriek tomu, že progresia alko-

holového poškodenia je dobre známa, nemáme všeobecne akceptovanú preventívnu liečbu, resp. liečbu na zvrátenie tohto patologického procesu. Liečba sa orientuje skôr na zmiernenie prejavov dekompenzácie pečeneňového ochorenia, v ojedinele indikovaných prípadoch niekedy na transplantáciu pečene u pacientov s terminálnym poškodením (podmienkou je potvrdená abstinencia).

Predpokladá sa, že jedným z hlavných mechanizmov, ktorým alkohol spôsobuje poškodenie pečene, je oxidačný stres. Reaktívne formy kyslíka a dusíka (ROS, RNS) sú produktom normálneho metabolizmu buniek a majú potenciálne priaznivé účinky (napr. cytotoxicita voči baktériám, vnútrobunková signalizácia atď.). Reaktívne formy kyslíka a dusíka však za istých okolností poškodzujú aj normálne tkanivo, preto má rovnováha medzi prooxidantami a antioxidantami rozhodujúci vplyv na prežitie a fungovanie aeróbných organizmov.

Nerovnováha v prospech prooxidantov a v neprospech antioxidantov, ktorá môže viesť k poškodeniu tkaniva, sa definovala ako oxidačný stres. Oxidačný stres sa pokladá za kľúčový mechanizmus pri vzniku mnohých ochorení vrátane alkoholového poškodenia pečene. Di Luzio [8] v roku 1966 prvý popísal peroxidáciu lipidov pri chronickom abúze alkoholu a toto zistenie bolo opakovane replikované. Okrem známych metabolitov etanolu s oxidačným potenciálom, ako sú aldehyd a acetát, ktoré reagujú s inými reaktívnymi zlúčeninami za vzniku silných prooxidantov (malonyldialdehyd, cysteinyl a pod.), identifikoval sa aj samotný voľný radikál etanolu – voľný α -hydroxyetyl [9,10]. Avšak oxidačný stres pri klinickom alkoholovom poškodení pečene pravdepodobne nespôsobuje len tvorba samotných prooxidantov. U alkoholikov až 50 % denného príjmu kalórií tvoria kalórie z alkoholu, čo vedie k nutričnému deficitu, ktorý

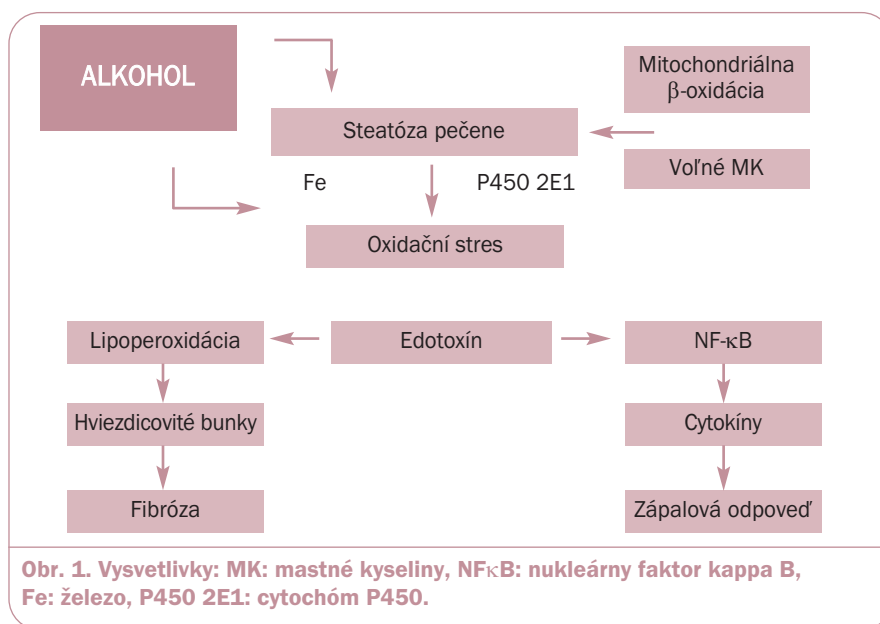
následne komplikuje malabsorbciou z gastrointestinálneho traktu. Výsledkom je, že alkoholici majú v dôsledku spomínanej zvýšenej „spotreby“ aj nižší príjem prirodzených antioxidantov, a tým celkovo znížený ich hotovostný pool. Výsledný oxidačný stres pri alkoholovom poškodení pečene je teda dôsledkom zvýšenej produkcie prooxidantov a znížením dostupnosti antioxidantov.

Ktoré prooxidanty sa podieľajú na alkoholovom poškodení pečene?

Chronický príjem alkoholu je spojený okrem vyššie uvedených zmien hotovostného poolu prooxidantov v dôsledku ich zvýšenej spotreby a zníženého príjmu s ďalšou dôležitou odchýlkou oproti abstijnúcemu individu: zvýšenou permeabilitou sliznice gastrointestinálneho traktu pre oxidanty a endotoxíny. Uvedené látky buď pôsobia priamo prooxidačne (hemoglobín, kovy, niektoré peroxidázy zo zložiek potravy, polyvinylpyrolidínové makromolekuly atď.), alebo nepriamo: endotoxín z baktérií. Endotoxín priamo aktivuje Kupfferove bunky, ktoré aktiváciou osy NF- κ B – TNF α generujú tvorbu kyslíkových reaktívnych druhov v hepatocyte a spôsobujú jeho priame poškodenie „zvnútra“ – alebo – zvýšením aktivity NADPH-oxidázy v samotnej Kupfferovej bunke zvýšia produkciu a uvoľňovanie kyslíkových reaktívnych druhov, ktoré reagujú s inými substrátmi vrátane etanolu za vzniku už spomínaného α -hydroxyetylového radikálu [11].

Čo je zdrojom prooxidantov v pečeni pri expozícii alkoholu?

Kľúčovú úlohu v progresii alkoholového poškodenia pečene má zápal a v ňom ako fixné makrofágy – Kupfferove bunky, tak aj infestované zápalové bunky (neurofily a lymfocyty). Schopnosť zápalových buniek odstrániť a eliminovať rôzne exogénne a endogénne látky je dôležitý fyziologický proces, ale pri neprimeranej stimulácii môžu poškodiť aj normálne tkanivo. Abnormálna aktivácia Kupfferových buniek hrá kľúčovú



úlohu pri iniciácii alkoholového poškodenia pečene. Alkohol špecificky stimuluje Kupfferove bunky a monocyty k zvýšeniu fagocytárnej a baktericídnej aktivity a k produkcii cytokínov. Práve tieto bunky obsahujú dva hlavné zdroje prooxidantov – enzýmy NADPH-oxidáza a indukovateľná forma NOS (iNOS). Ďalším dôležitým zdrojom prooxidantov sú samotné hepatocyty. Hlavným zdrojom je izoforma cytochrómu P450 2E1, ktorej sa pripisuje nielen hlavná úloha v peroxidácii lipidov v hepatocyte (ale aj v makrofágoch a Kupfferových bunkách), ale aj aktivácia kaskády mediovanej faktorom nekrotizujúcim tumory α (TNF α), vyúsťujúcej do profibroplastkej formy zápalu [11,12].

Tvorba prooxidantov inými, nie parenchýmovými bunkami

Až donedávna sa v súvislosti s oxidačným stresom pri alkohole poškodení pečene venovala pozornosť predovšetkým infiltrujúcim zápalovým bunkám, Kupfferovým bunkám alebo hepatocytom. Čoraz viac údajov však nasvedčuje tomu, že oxidačný stres zohráva dôležitú úlohu v transformácii hviezdicovitých buniek na myofibroblasty, ktoré sú kľúčovými bunkami strómy fibroticky zmenenej pečene. Hoci oxidant-dependentná signalizácia z iných buniek (napr. cytokínmi) prispieva

k transformácii hviezdicovitých buniek a k nadprodukcii kolagénu, produkcia oxidantov samotnými hviezdicovitými bunkami pravdepodobne tiež prispieva k ich transformácii, nakoľko samotné reaktívne formy kyslíka plnia úlohu vnútrobunkových signálnych molekúl. Môžu aktivovať prepis špecifických častí genómu bunky [13], ale môžu pôsobiť tiež autokrinne i parakrinne.

Alkoholom vyvolané zmeny redox rovnováhy bunky, nezávislej od tvorby prooxidantov

Treba zdôrazniť, že akákoľvek zmena v prospech tvorby prooxidantov alebo v neprospech ochranných antioxidantov vedie k oxidačnému stresu. Alkohol môže spôsobiť narušenie redox rovnováhy bez toho, že by zvýšil absolútnu koncentráciu prooxidantov ako takých. Ako príklad slúžia nízke hladiny antioxidantov u alkoholikov spôsobené nutričným deficitom. Podobne mobilizácia voľného železa vyvolaná alkoholom vedie k zvýšeniu lipoperoxidácie katalyzovanej prítomným železom (tzv. Fentonova reakcia). V experimente sa dokázalo, že jestvuje silná väzba medzi poruchou homeostázy železa (napr. hemochromatóza) a alkoholovým poškodením pečene a že substitúcia železa prehľbuje poškodenie spôsobené alkoholom [14–

16]. Alkohol vyvoláva aj hypoxiu v pericentrálnych oblastiach laloka pečene. Hypoxia nielen zvyšuje produkciu prooxidantov cestou reperfúzneho poškodenia (hypoxia/reoxygénácia), ale pravdepodobne mení aj rovnováhu v bunke v prospech oxidačného stresu. V dôsledku pôsobenia alkoholu sa zníži prísun O_2 do mitochondrií, nastane pokles napätia kyslíka v bunke, čo vyvolá poruchu v mitochondriálnom prúde elektrónov. Hypoxia taktiež zníži schopnosť pečenej buniek neutralizovať voľné radikály. To znamená, že bunky majú v dôsledku hypoxie veľkú pohotovosť k oxidačnému stresu a poškodeniu [11].

Ďalším príkladom je inhibícia 26S proteozómu v hepatocytoch v dôsledku pôsobenia alkoholu. Tento kľúčový komplex zodpovedá za degradáciu oxidačne zmenených proteínov. V dôsledku inhibície 26S proteozómu dochádza k akumulácii poškodených proteínov, pravdepodobne aj bez prítomnosti absolútneho zvýšenia hladiny prooxidantov. Napokon jestvuje množstvo proteínov a systémov pôsobiacich antioxidantne. Niektoré z nich nezasahujú priamo neutralizačne voči oxidačným činidlám, ale slúžia ako pomocné redukčné činidlá a udržiavajú katalytickú aktivitu iných antioxidantných proteínov alebo malých molekúl. Tieto reakcie, samozrejme, potrebujú energiu. Zníženie energetického metabolizmu bunky pri abúze alkoholu tak môže nepriamo poškodiť antioxidantovú obranu.

Ako sa oxidanty podieľajú na alkoholovom poškodení bunky?

Predpokladaným mechanizmom, ktorým oxidatívny stres spôsobuje poškodenie bunky, je chemická zmena biologických molekúl. Chemická zmena môže zmeniť alebo interferovať s normálnymi biologickými procesmi a byť pre bunku priamo toxická. Zmenené biologické molekuly môžu spustiť imunitnú odpoveď a spôsobiť autoimúnne ochorenie. Protilátky proti oxidatívne zmeneným proteínom boli dokázané u ľudí ako aj v animálnych modeloch alkoholového poškodenia pečene.

Zistilo sa, že plazmatické koncentrácie malonyldialdehydu a acetaldehydu, intermediárnych produktov oxidácie alkoholov (najsilnejšie oxidačné činidlá v „reťazovej reakcii“ oxidačného stresu) zvyšujú imunitnú odpoveď ako u alkoholikov, tak aj v animálnych modeloch alkoholového poškodenia pečene [17]. Prooxidanty spôsobujú veľmi špecifické zmeny v bunkách v koncentráciách, ktoré veľa krát nie sú technicky zisťiteľné/merateľné. Napríklad množstvo oxidantov vytvorených v pečeni počas ischemie/reperfúzie je príliš nízke na to, aby vyvolalo priame chemické zmeny, ale za daných okolností sú prostredníkom poškodenia tkaniva. V súčasnosti je jasné, že prooxidanty sú prostredníkom a/alebo zosilňovačom svojho signálu zmenou signalizačných kaskád v bunke. V poslednom období bolo publikovaných niekoľko prehľadných prác, ktoré sa zaoberajú úlohou signalizačných kaskád na poškodení tkanív spôsobených oxidačným stresom. Ukázalo sa, že etanol moduluje signál mnohých kaskád in vitro v experimentálnych modeloch alkoholového poškodenia pečene, ale či sa tak deje cestou len samotného oxidačného stresu, zostáva nejasné.

Aktivácia transkripčného faktora NF- κ B sa jasne viaže na produkciu oxidantov in vitro a v experimentálnych modeloch alkoholového poškodenia pečene, avšak vplyv aktivácie NF- κ B má na rôzne typy buniek rozdielne biologické účinky. NF- κ B je kľúčový mediátor zápalovej odpovede v Kupfferových bunkách mechanizmom aktivácie transkripcie proinflamačných génov (napr. faktora nekrotizujúceho tumory α /TNF α , obr. 1).

Zvýšenie kapacity vlastnej vnútrobunkovej produkcie antioxidantov je cieľom antioxidantovej liečby alkoholového poškodenia pečene

Silymarín je komplexná aktívna látka, extrakt so Silymarinum marianum, jednoročnej rastliny, ktorá sa pre liečebné účely pestuje od dávnoveku. Farmako-

logickými štúdiami sa preukázalo, že silymarín pôsobí pri steatóze a cirhóze pečene ako „zametač“ (scavenger) voľných radikálov (antioxidants), má protizápalové, imunomodulačné a chelatačné účinky (Fe $^{++}$). Celkovo má aj stabilizačné účinky na bunkovú membránu a preukázanú schopnosť selektívne stimulovať proliferáciu hepatocytov. Súčasné znalosti o úlohe oxidačného stresu v patogenéze alkoholového poškodenia pečene (ALD, Alcohol-Induced Liver Disease) oprávňujú predpoklad, že farmakologické vlastnosti silymarínu majú veľký terapeutický význam [18]. Silymarín v klinickej štúdii Liebera CS et al [19] znížil plazmatické koncentrácie ALT, 4-hydroxynonenalu (marker lipidovej peroxidácie), prokolagénu typu-1 a mRNA α /I-prokolagénu (dva markery fibrogenézy) a celkové hladiny triacylglyceridov, čo nepriamo potvrdilo hepatoprotektívny účinok silymarínu a potenciál spomaliť progresiu alkoholového poškodenia pečene.

Saller R et al [20] publikovali systematický prehľad klinických dôkazov týkajúcich sa účinnosti silymarínu. Spracovali 65 publikovaných prác, v ktorých sa vyskytli kľúčové slová ako: silymarín, silibin, silicristin a klinická štúdia. 19 z publikovaných prác spĺňalo kritérium pre dvojito-slepú alebo jednocho-slepú štúdiu. Autori zistili, že pri alkoholovom poškodení pečene v porovnaní s placebom, v skupine liečenej silymarínom došlo k zníženiu plazmatickej koncentrácie aspartát-aminotransferázy ($p = 0,01$), ale nie alkalickej fosfatázy. Pri cirhóze pečene, väčšinou v súvislosti s abúzom alkoholu, bola celková mortalita nižšia v skupine liečenej silymarínom – 16,1 %, kým v placebovej skupine bola mortalita 20,5 %, hoci rozdiel nebol štatisticky významný. Signifikantný rozdiel bol však zistený v mortalite v súvislosti s pečenej ochorením (10,0 % pri liečbe silymarínom a 17,3 % pri podávaní placeba; $p = 0,01$). Taktiež bola zistená výborná tolerancia liečby silymarínom: výskyt komplikácií na konci sledovania bol hranične významne menší pri liečbe

silymarínom než v skupine placebo ($p = 0,06$). V závere prehľadu autori uvádzajú, že po zvážení rizika a benefitu je použitie silymarínu ako podpornej liečby alkoholového poškodenia pečene a cirhózy Child A opodstatnené.

Silymarín sa odporúča ako preventívna liečba pri chronickom abúze alkoholu alebo pri už existujúcom alkoholovom poškodení pečene **v dávkach minimálne 39,8 ± 5,2 mg/kg/deň**.

Záver

Zvýšenie kapacity vlastnej vnútrobunkovej produkcie antioxidantov je cieľom antioxidantnej liečby alkoholového poškodenia pečene. V tomto zmysle pôsobí aj silymarín, ktorý má klinické dôkazy pre to, aby sa stal podpornou a preventívnou liečbou pri alkoholovom poškodení pečene.

Literatúra

- Mandayam S, Jamal MM, Morgan TR. Epidemiology of alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 2004; 24(3): 217-232.
- Pageaux GP, Bismuth M, Perney P. Alcohol relapse after liver transplantation for alcoholic liver disease: does it matter? *J Hepatol* 2003; 38(5): 629-634.
- Roizen R, Kerr WC, Fillmore KM. Cirrhosis mortality and per capita consumption of distilled spirits, United States, 1949-1994: trend analysis. *West J Med* 1999; 171(2): 83-87.
- Bellentani S, Saccoccio G, Costa G et al. Drinking habits as cofactors of risk for alcohol induced liver damage. The Dionysos Study Group. *Gut* 1997; 41(6): 845-850.
- Sørensen TI, Orholm M, Bentsen KD et al. Prospective evaluation of alcohol abuse and alcoholic liver injury in men as predictors of development of cirrhosis. *Lancet* 1984; 2(8397): 241-244.
- Teli MR, Day CP, Burt AD. Determinants of progression to cirrhosis or fibrosis in pure alcoholic fatty liver. *Lancet* 1995; 346(8989): 1562-1563.
- Corrao G, Aricó S, Zambon A et al. Is alcohol a risk factor for liver cirrhosis in HBsAg and anti-HCV negative subjects? Collaborative Groups for the Study of Liver Diseases in Italy. *J Hepatol* 1997; 27(3): 470-476.
- Di Luzio NR. A mechanism of the acute ethanol-induced fatty liver and the modification of liver injury by oxidants. *Lab Invest* 1966; 15: 50-63.
- Wu D, Cederbaum AI. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Res Health* 2003; 27(4): 277-284.
- Knecht KT, Bradford BU, Mason RP et al. In vivo formation of free radical metabolite of ethanol. *Mol Pharmacol* 1990; 38(1): 26-30.
- Arteel GE. Oxidants and antioxidants in alcohol-induced liver disease. *Gastroenterology* 2003; 124(3): 778-790.
- Cao Q, Mak KM, Lieber CS. Cytochrome P4502E1 primes macrophages to increase TNF- α production in response to lipopolysaccharide. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289(1): G95-G107.
- Valko M, Leibfritz D, Jan Moncol J et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39(1): 44-84.
- Sato N, Lindros KO, Baraona E et al. Sex difference in alcohol-related organ injury. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25 (5 Suppl ISBRA): 40S-45S.
- Goist KC jr, Sutker PB. Acute alcohol intoxication and body composition in women and men. *Pharmacol Biochem Behav* 1985; 22(5): 811-814.
- Novo E, Parola M. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2008; 1(1): 5.
- Thurman RG. Mechanism of hepatic toxicity: II. Alcoholic liver injury involves activation of Kupffer cells by endotoxin. *Am J Physiol* 1998; 275: G605-G611.
- Berger J, Kowdley KV. Is silymarin hepatoprotective in alcoholic liver disease? *J Clin Gastroenterol* 2003; 37(4): 278-279.
- Lieber CS, DeCarli LM. Animal models of chronic ethanol toxicity. In Packer L (ed). *Methods in Enzymology: Oxygen Radicals in Biological Systems, part C*. Orlando: Academic Press 1994: 585-594.
- Saller R, Brignoli R, Melzer J et al. An updated systematic review with meta-analysis for the clinical evidence of silymarin. *Forch Komplementärmed* 2008; 15(1): 9-20.

MUDr. Lívia Vavrušová, PhD.

Psychiatrická klinika SZU a FNŠP
Bratislava-Ružinov
vavrusova@nspr.sk