UNIVERZITA KARLOVA

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

KARDIOVASKULÁRNÍ ÚČINKY SILYMARINU

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Jana Pourová, Ph.D.

Hradec Králové 2020 Leona Ryzová

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorských dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 27.4.2020

Leona Ryzová

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala své školitelce PharmDr. Janě Pourové Ph.D. za cenné rady, věcné připomínky, vstřícnost a inspiraci při konzultacích a vypracování diplomové práce.

ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Studentka: Leona Ryzová

Školitel: PharmDr. Jana Pourová, Ph.D.

Název diplomové práce: Kardiovaskulární účinky silymarinu

Cíl:

Cílem diplomové práce je shrnutí dosavadních poznatků o směsi přírodních rostlinných látek, souhrnně označované jako silymarin, a zmapování výsledků nejnovějších studií se zaměřením na kardiovaskulární účinky silymarinu.

Hlavní poznatky:

Z dostupných údajů vyplývá, že silymarin má na lidský organismus pozitivní účinky, mezi které řadíme hepatoprotektivní, choleretické a cholagogní, neuroprotektivní, antikancerogenní a antivirové, protizánětlivé účinky a pozitivní efekt na diabetes mellitus. Pozitivní působení na kardiovaskulární systém zahrnuje protektivní vliv na cévní endotel, antioxidační účinky, příznivý efekt na krevní lipidy, regulace krevní agregace a antidiabetické účinky. I když závěry ze studií kardiovaskulárních účinků nejsou vždy shodné, většina potvrzuje pozitivní působení silymarinu na kardiovaskulární systém. Nezbytnou součástí budoucích výzkumů bude hledání nových lékových forem za účelem zvýšení biologické dostupnosti silymarinu, která zatím jeho klinické uplatnění limituje.

Závěr:

Silymarin je směs přírodních látek s významným potenciálem pro případný vývoj nových léčiv. Zaslouží si proto další výzkum jak svých terapeutických a preventivních účinků, tak dalších, zatím ne zcela dostupných poznatků, nezbytných pro klinické uplatnění.

ABSTRACT

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Pharmacology & Toxicology

Student: Leona Ryzová

Supervisor: PharmDr. Jana Pourová, Ph.D.

Title of diploma thesis: Cardiovascular effects of silymarin

Aim:

The aim of the diploma thesis is to summarize the existing knowledge about the mixture of natural plant substances collectively referred to as silymarin and to map the results of the latest studies focusing on the cardiovascular effects of silymarin.

Main findings:

Available data suggest that silymarin has positive effects on the human body, including hepatoprotective, choleretic and cholagogic, neuroprotective, anticancer and antiviral, anti-inflammatory and positive effects on diabetes mellitus. Positive effects on the cardiovascular system include protective effects on the vascular endothelium, antioxidant effects, beneficial effects on blood lipids, regulation of blood aggregation and antidiabetic effects. Although the conclusions from cardiovascular studies are not always the same, most confirm the positive effect of silymarin on the cardiovascular system. A necessary part of future research will be the search for new dosage forms in order to increase the bioavailability of silymarin, which so far limits its clinical application.

Conclusion:

Silymarin is a mixture of natural substances with significant potential for the possible development of new drugs. It deserves its further research of both its therapeutic and preventive effects as well as other, not yet fully available findings, necessary for clinical application.

OBSAH

1. SEZNAM ZKRATEK 8
2. ÚVOD A CÍL PRÁCE 11
3. SILYMARIN – OBECNÁ CHARAKTERISTIKA 12
3.1. Zdroje silymarinu 12
3.2. Ostropestřec mariánský 13
3.2.1. Ostropestřec v minulosti 13
3.2.2. Základní charakteristika Silybum marianum 14
3.2.3. Léčebné využití v současnosti 15
3.3. Jednotlivé obsahové látky Silybum marianum 19
3.3.1. Flavonolignany 19
3.3.2. Flavonoidy 21
3.3.3. Ostatní obsahové látky 21
3.4. Biologická dostupnost a farmakokinetika silybinu 22
3.5. Biosyntéza silybinu 23
4. Kardiovaskulární účinky 25
4.1. Ateroskleróza 25
4.1.1. Vliv silymarinu na aterosklerózu 26
4.2. Působení silymarinu na endotel cév 26
4.3. Vliv silymarinu na krevní tlak 30
4.4. Antioxidační účinky silymarinu 33
4.5. Působení silymarinu na hladinu lipidů 41
4.6. Působení silymarinu na metabolický syndrom 49
4.7. Účinky silymarinu na agregaci trombocytů 54
4.8. Kardioprotektivní účinky silymarinu 65
4.8.1. Vliv silymarinu na nežádoucí účinky protinádorových léčiv 67

4.8.2. Vliv silymarinu na nežádoucí účinky jiných léčiv 69
5. DISKUZE 71
6. ZÁVĚR 74
7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY 75
8. SEZNAM OBRÁZKŮ 85

1. SEZNAM ZKRATEK

AA	arachidonová kyselina
ABCA 1	transmembránový ATP vázající kazetový transportér A1
ADMA	asymetrický dimetylarginin
ADP	adenosindifosfát
AGT	angiotensinogen
ALT	alaninaminotransferáza
ASA	kyselina acetylsalicylová
AST	aspartátaminotransferáza
AT I	angiotensin 1
AT II	angiotensin 2
ATO	atorvastatin
ATP	adenosintrifosfát
AUC	biologická dostupnost
BSM	směs berberinu, silymarinu a monakolinu K-20
Ca2+	vápenaté ionty
CAT	kataláza
CD62P	selektin CD62P
COX	cyklooxygenáza
CPK	kreatinfosfokináza
CVD	kardiovaskulární onemocnění
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
eNOS	endotelová NO-syntáza
GSH	glutathionperoxidáza
HClO	kyselina chlorná
HDL	lipoprotein o vysoké hustotě
HHTg	hypertriglyceridemičtí potkani
H2O2	peroxid vodíku
HUVEC	endoteliální buňky lidské umbilikální žíly
IL-1β	interleukin 1β
IL-6	interleukin 6
IR	inzulinová rezistence

LDH	laktátdehydrogenáza
LDL	lipoprotein o nízké hustotě
MDA	malondialdehyd
mRNA	mediátorová RNA
MS	metabolický syndrom
MS	mikronizovaný silymarin
NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfát redukovaná forma
NAFLD	nealkoholová jaterní choroba
NASH	nealkoholová steatohepatitida
NF-κB	nukleární faktor kappa B
NGT	normální glukózová tolerance
NO	oxid dusnatý
Nrf2	nukleární faktor erythroid 2-related factor 2
$O2\cdot^-$	superoxidový radikál
$OH^\cdot$	hydroxylový radikál
OVX	ovariektomie (samice potkanů po ovariektomii)
PCSK9	proprotein konvertáza subtilisin/kexin typu 9
PF-4	faktor destiček 4
P-gp	p-glykoprotein
PPARα	proliferátorem aktivovaný peroxizomální jaderný receptor alfa
PPARy	proliferátorem aktivovaný peroxizomální jaderný receptor gama
PS	silymarin ve formě fytosomu
RAS	renin-angiotensinový systém
RBC GPX	glutathionperoxidáza v červených krvinkách
RCT	reverzmí transport cholesterolu
REF	buňky embryonálních fibroblastů potkana
ROS	reaktivní druhy kyslíku
SMEDDS	samo-mikroemulgující systém dodávání léčiv
SOD	superoxiddismutáza
SS	standardizovaný extrakt silymarinu
TAG	triacylglyceroly
TC	celkový cholesterol

TNF-α	tumor nekrotizující faktor α
TTM	hladina přírodního thiolového antioxidantu
TXA2	tromboxan A2
TUNEL	detekující metoda (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling)
VLDL	lipoprotein o velmi nízké hustotě
1-hh	hodnota 1-hodinové plazmatické glukózy po zatížení, která je ≥ 155 mg/dl

2. ÚVOD A CÍL PRÁCE

Silymarin je komplex přírodních látek typu flavonolignanů. Přírodní látky představují jeden z nejdůležitějších zdrojů potenciálních léčiv a v poslední době se těší stále většímu zájmu. Tato skutečnost vyplývá z nedostatku nových léčiv zavedených do klinické praxe, a to zejména z důvodu nepřijatelných nežádoucích účinků. Komplex účinných látek v silymarinu, tedy zástupce přírodních látek, se ukazuje jako velmi zajímavá skupina látek s potenciálem pro terapii některých onemocnění.

Kardiovaskulární onemocnění patří celosvětově mezi hlavní příčiny morbidity a mortality. Kromě toho představují i velkou ekonomickou zátěž. Farmakoterapie kardiovaskulárních chorob není doposud uspokojivě zvládnuta a obzvláště u některých kardiovaskulárních onemocnění chybí optimální farmakologická léčba.

Z dostupných studií lze usoudit, že silymarin má významné hepatoprotektivní účinky, pro které je také nejvíce využíván. Mezi jeho další účinky patří příznivý vliv na produkci a vylučování žluči, protirakovinné a chemoterapeutické, antivirové, neuroprotektivní, antidiabetické a protizánětlivé účinky. Několik dalších studií naznačuje, že silymarin má mnoho dalších pozitivních vlivů na lidský organismus.

Cílem této diplomové práce je shrnutí dosavadních poznatků o směsi přírodních rostlinných látkách, souhrnně označované jako silymarin, a zmapování výsledků nejnovějších studií se zaměřením na kardiovaskulární účinky silymarinu.

3. SILYMARIN – OBECNÁ CHARAKTERISTIKA

Silymarin souhrnně označuje komplex tří hlavních účinných látek, a to flavonolignanů - silybin, silykristin a silydianin. Tato směs látek se nachází v rostlině Ostropestřec mariánský. Silymarin má obrovskou škálu využití. Patří mezi ně protizánětlivé, protirakovinné a detoxikační účinky. Je schopen ovlivnit stav cév a nervového systému. Dále se může podílet na produkci prolaktinu, má pozitivní účinky na gastrointestinální trakt a má mnoho dalších účinků. Do popředí zájmu se dostal díky svým silným hepatoprotektivním účinkům, pro které se v současné době nejvíce využívá. Na trhu se lze setkat s velkým množstvím registrovaných přípravků na bázi silymarinu, dokonce i v různých lékových formách. [1]

3.1. Zdroje silymarinu

Jediným významným zdrojem této směsi látek je Ostropestřec mariánský neboli Silybum marianum, z čeledi hvězdnicovitých (Asteraceae). [2] Rostlina se pro své léčebné účinky pěstuje již v mnoha zemích. Můžeme ji nalézt i u nás. Ostropestřec vypěstovaný v oblasti Středomoří, díky lepším teplotním podmínkám, obsahuje vyšší množství silymarinového komplexu. Pro terapeutické účinky se využívá hlavně plod, kterým je nažka. Ke sklizni dochází na přelomu srpna/září, kdy dozrává květenství, jímž je úbor. [2,4,5]

Dnešní farmaceutický průmysl poptává po rozmanitějším spektru komplexu účinných látek v silymarinu, proto se vědci zaměřují také na pěstování různých odrůd této rostliny. Zmínila bych práci výzkumníků z Olomouce, kterým se podařilo vyšlechtit tři různé odrůdy - Tevasil, Albus a Tevadian. Odlišují se nejen ve směsi aktivních látek, ale i vegetační dobou. První dvě zmíněné, Tevasil a Albus, vynikají vyšším obsahem silymarinového komplexu. Tevadian má vyšší poměr silydianinu na úkor silybinu. [3]

3.2. Ostropestřec mariánský

3.2.1. Ostropestřec v minulosti

Pozitivní terapeutický vliv ostropestrce na játra je znám po delší dobu. Odborná literatura uvádí, že rostlina se pro své léčebné účinky užívala už před dvěma tisíciletími. [1] Jako o léčivé rostlině se o ní dá hovořit od doby antické, kdy byla řeckými a později také římskými léčiteli hojně využívána. [4] Většina odborníků oceňovala ostropestrce zejména pro jeho léčebný účinek na játra. V odborných pramenech však nalezneme zmínky i o jeho jiných kladných účincích.

Prostí lidé si původně tuto rostlinu spojovali s účinkem na zvýšenou produkci mateřského mléka. Tradovala se totiž zažitá domněnka, že bílé části vyskytující se na žilkách listů, jsou pozůstatkem mléka Panny Marie. Známý antický Řek Dioskorides, který byl ve své době významným lékařem, radil užití semen této rostliny po uštknutím hadem. V Římě využívali šťávu z této rostliny k odtoku žluči. [5] O pár století později se ve Velké Británii objevuje informace od bylinkáře Johna Gerarda, jenž poukazoval na možnost využití ostropestrce na stavy spojené s trudnomyslností. Avšak tyto stavy byly dříve dávány do souvislosti s jaterním onemocním, nikoliv ve významu, v jakém ho známe dnes. Přibližně ve stejném období byl vydán slavný Mattioliho herbář, ve kterém tento italský lékař doporučuje kořeny rostliny jako možný medikament při léčbě žloutenky, ledvinových kamenů a „ucpaných jater“. [2]

Název byliny se v průběhu dějin mnohokrát měnil. V dřívějších dobách se bodlák česky označoval jako ostropes, případně jako bodlák mariánský. Pod svým současným názvem vystupuje až od 19. století. [4] Tento dvouslovný název vychází z jeho typických vizuálních rysů. Je tzv. „ostrý“ a „pestrý“. Druhový název odkazuje na tradici spojenou s Pannou Marií, kterou jsem výše nastínila. Mezi další názvy patří: bejlí Panny Marie, bodlák Marie, bodlák opilců, jaterní semínko, koření podjedové, Kristova koruna, bodlák pestrý. [4,6]

3.2.2. Základní charakteristika Silybum marianum

Ostropestřec mariánský

Botanický název: Silybum marianum

Odborná klasifikace:

Říše	Rostliny (Plantae)
Podříše	Cévnaté rostliny (Tracheobionta)
Oddělení	Krytosemenné rostliny (Magnoliophyta)
Třída	Vyšší dvouděložné rostliny (Rosopsida)
Řád	Hvězdnicotvaré (Asterales)
Čeleď	Hvězdnicovité (Asteraceae)
Rod	Ostropestřec (Silybum)

Popis: Jedná se o jednoletou nebo dvouletou bylinu, která dosahuje výšky až 150 cm. Původní výskyt ostropestrce mariánského spadá jednak do Středomoří, tak i do oblasti Kašmíru. Dnes ho lze běžně nalézt i na evropském kontinentu. Tato statná rostlina disponuje svými specifickými rysy, díky kterým je poměrně snadno rozpoznatelná. Na první pohled je lehce zaměnitelná s bodlákem, který je v naší krajině hojně zastoupen a je k nalezení na skoro každé louce. Jejich význam je však neporovnatelný. Má nápadné, leskle zelené ostnité listy, na nichž jsou charakteristické bílé skvrny. Rostlina má skromně větvenou, ale mohutnou lodyhu. Červenofialové květy jsou uspořádány v jednotlivých, asi 5 cm velkých úborech. (Obr.1) V přírodě se můžeme s ostropestrcem setkat v letních měsících, kvete od července do září. Plody tvoří červenohnědé nažky, na konci opatřené bíle se lesknoucím chmýřím, díky kterému se mohou vznášet a šířit se tak vzduchem. Tyto nažky jsou významnou rostlinnou drogou, bohatou na tzv. silymarinový komplex. Rostlina má kulovitý kořen, který může dosahovat délky až 30 cm. Rostlina je lákavá pro včely, protože se v jejích úborech nalézá velké množství sladkého nektaru. Pro léčebné účely se může používat prakticky celá část rostliny. Zejména se zpracovávají její květy, listy a semena. [7] Při sběru byliny je třeba upozornit na její specifický rys, kterým je její ostnatost.

Obr. 1 : Ostropestřec mariánský (Silybum marianum)

Zdroj: Ostropestřec mariánský. In: *Elixiry.cz* [online]. [cit. 2020-02-16]. Dostupné z: https://www.elixiry.cz/fotky6542/fotos/_vyr_48_ostropestrec-NY.jpg

3.2.3. Léčebné využití v současnosti

Silybum marianum a jeho extrakt se využívá k léčbě celého spektra jaterních chorob. Jeho účinky jsou potvrzeny řadou vědeckých studií. Ostropestřec má ale i několik dalších významných vlastností a je předpoklad, že v budoucnu se objeví další.

Jaterní účinky

Jedná se o jednu z nejdůležitějších léčivých bylin v oblasti jaterních dysfunkcí. Rostlina dokáže zajistit takzvanou regeneraci jaterních buněk. Komplex látek v ostropestrci se podílí na stabilizaci membrán. Díky tomu je zamezeno pronikání škodlivých látek do buněk. Nežádoucími látkami jsou zejména alkohol, průmyslové chemikálie, případně další škodlivé látky včetně léků. Rostlina má schopnost stimulovat vznik zcela nových buněk. Léčí tedy játra narušená nemocemi i škodlivými látkami. Využívá se jak na akutní, tak i na chronická onemocnění. Patří mezi hlavní byliny

používané při terapii virové hepatitidy. Vyššího efektu nabývá spíše u preventivního než u terapeutického užívání. Léčebné účinky lze využít také u jaterní cirhózy, případně při otravě muchomůrkou zelenou. Silymarin dokáže zabránit smrtelné otravě po pozření muchomůrky zelené, pokud je podaný infuzí do 24 hodin od požití této jedovaté houby. [2]

Choleretické a cholagogní účinky

Účinné látky v ostropestrci jsou známé pro své choleretické a cholagogní účinky. Podílí se tedy na zvýšení produkce žlučí a urychlení jejího vylučování. Silymarin lze využít při zánětech žlučníku a jako podpůrnou léčbu u žlučníkové koliky či žlučníkových kamenů. [8]

Protirakovinné a chemoterapeutické účinky

Ostropestřec má dále významné antikancerogenní a chemoterapeutické účinky, které jsou také neustále podrobovány vědeckým studiím a jsou tak vyvíjeny nové a nové poznatky. Silymarinový komplex je schopen omezit růst nádorových buněk a podílet se na apoptóze buněk, čehož se dá využít u některých typů rakoviny. Účinek byl prověřen při léčbě nádorů prostaty, prsu, kůže a karcinomu děložního čípku. Jeho chemoterapeutická aktivita spočívá v antioxidačním působení. Chrání zdravé buňky před nežádoucím oxidačním stresem cytostatik. V kombinaci s cisplatinou dokáže silymarin minimalizovat nefrotoxické účinky cisplatiny. Metotrexát má zase výrazné hepatotoxické nežádoucí účinky, jež dokáže komplex účinných látek v ostropestrci značně eliminovat. Antioxidačních vlastností lze využít i při terapii doxorubicinem, jehož použití při léčbě novotvarů je značně komplikováno právě kardiotoxicitou tohoto cytostatika. [9] Tato problematika bude nastíněna i v pozdější kapitole.

Protizánětlivé účinky

Silymarin má již výše zmíněné protizánětlivé účinky. Tento efekt spočívá v inhibici tvorby tumor nekrotizujícího faktoru α (TNFα), leukotrienů, prostaglandinů a dalších látek vznikajících během zánětu. [9]

Vnější použití

Ostropestřec lze užívat i z vnějšku. Většinou jde o roztok, který se získává při drcení semen ostropestrce. Následně se tento nálev dá použít jako koupelový doplněk

nebo se využívá rozdrcených semen k obkladům na křečové žíly, hemoroidy či při problémech s bércovými vředy. [4] Pozitivní vliv má i na některá kožní onemocnění, zejména psoriázu.

Účinek na laktaci

Další oblastí, ve které může tato bylina pozitivně působit, je účinek na produkci prolaktinu, zodpovědného za produkci mléka u kojících matek. Bylo prokázáno, že silymarin po perorálním podání dokáže stimulovat prolaktin a ten následně zajistí laktaci. [10]

Neuroprotektivní aktivita

Silymarin by mohl být využit pro své neuroprotektivní vlastnosti v případě neurodegenerativních onemocněních. Účinek byl prozkoumán u Alzheimerovy choroby, Parkinsonovy nemoci a také u mozkové ischémie. [11] Základním neuroprotektivním mechanismem silymarinu je jeho schopnost inhibice oxidačního stresu v mozku. Je schopen snížit tvorbu β-amyloidních fibril v senilních placích, což je charakteristický rys pro Alzheimerovu chorobu. Chronická suplementace silymarinem rovněž částečné zlepšuje typické abnormality chování u této nemoci. Silymarin dokáže chránit buňky před ztrátou dopaminergních neuronů v substantia nigra, které jsou specifickým znakem Parkinsonovy choroby. Jeho podávání ukázalo podstatné zvýšení hladin dopaminu. Za tuto aktivitu se považuje další z jeho mechanismů účinků, a to inhibice monoaminoxidázy typu B. Mezi další mechanismy, zodpovědné za neuroprotektivní účinky silymarinu, patří snížení exprese a aktivity zánětlivých agens, což vede k redukci neuroinflamace a gliové aktivace, snížení apoptózy a inhibice acetylcholinesterázy. [12]

Trávení a diabetes mellitus

Silymarin působí pozitivně i na pankreas. Plní funkci chemoprotektantu a má schopnost obnovit funkci slinivky po intoxikacích. Mimo jiné dokáže stimulovat činnost antioxidačních enzymů slinivky, a to: glutathionperoxidázu, superoxiddismutázu a katalázu. Je schopen zvýšit hladinu inzulinu, tím dokáže snížit množství glukózy v krvi, a zároveň i pankreatickou peroxidaci lipidů. Díky těmto kladným účinkům na pankreas ho lze považovat za novou naději při léčbě diabetu mellitu. Stávající léčivé látky se totiž podílí pouze na uvolnění inzulinu nebo kontrolují hladinu glukózy v krvi, zatímco silymarin dokáže obnovit i endokrinní pankreatickou funkci. [9] Silybin, hlavní složka

silymarinového komplexu, prokázal příznivé účinky pří léčbě několika diabetických komplikacích, včetně diabetické neuropatie, diabetické nefropatie a nealkoholické steatohepatitidy. Tyto účinky jsou spojené zejména s jeho antioxidační aktivitou. [13]

Potenciální vliv na astma

Podávání silymarinu bylo zkoumáno také u astma. V tomto případě silymarin dokáže redukovat bronchospazmus vyvolaný hyperreaktivitou vůči antigenům u senzibilovaných jedinců. Za podstatou tohoto účinku zřejmě stojí snížení citlivosti dýchacích cest na histamin, ale přesný mechanismus účinku není dosud znám. [10]

Antivirový účinek

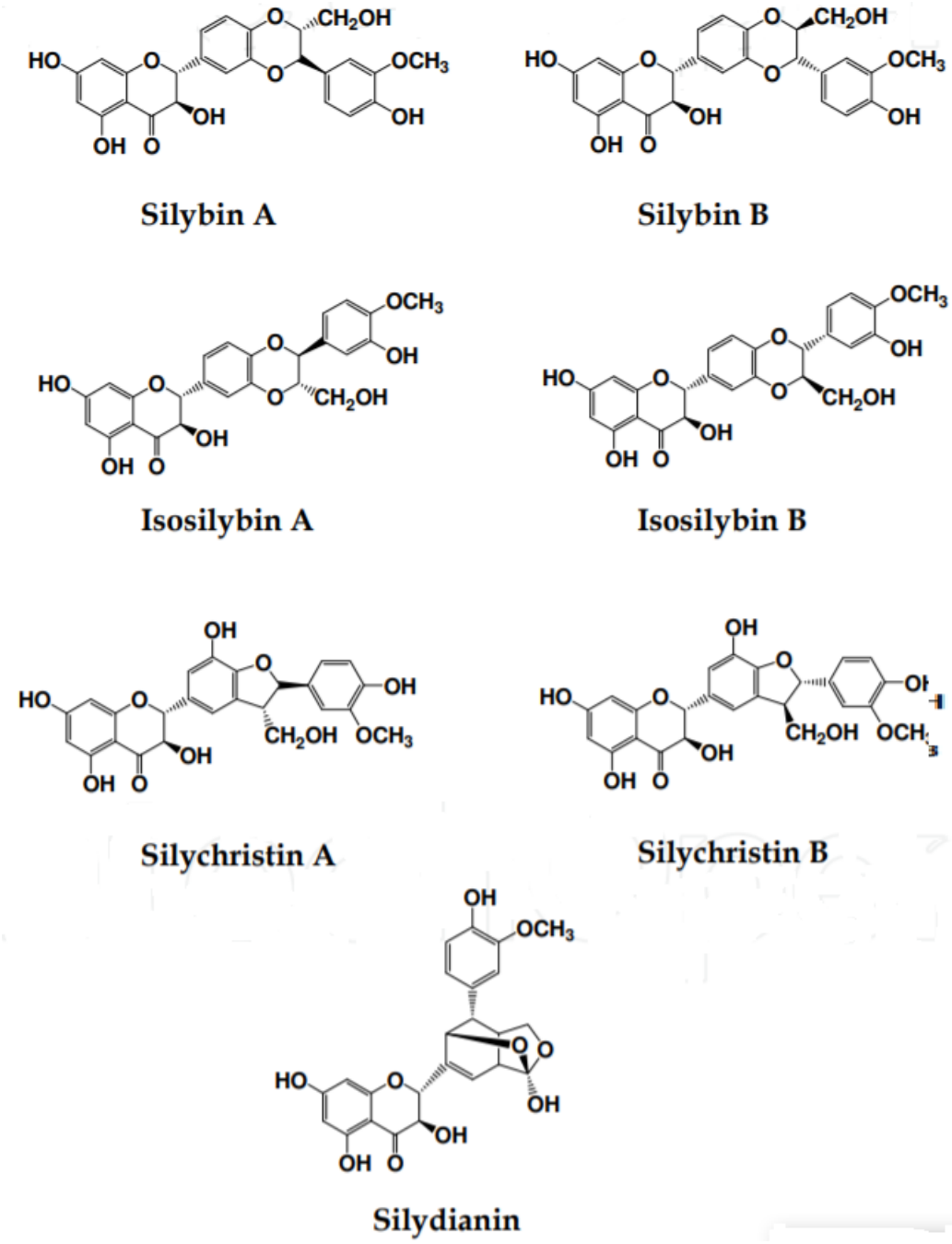
Silymarin má protivirový účinek, jež je doložený několika studiemi in vitro i in vivo. Byly prokázány různé antivirové aktivity silymarinu a jeho derivátů vůči jaterním i nejaterním patogenům. Díky tomu je lze pokládat za potenciální širokospektrá antivirotika. Vzhledem k polyfarmakologické aktivitě silymarinu a jeho derivátů vůči více cílům hostitelských buněk, jako je produkce oxidačního stresu, přirozená imunita a zánět buněk, autofagie, což jsou všechno fyziologické procesy buněk, které jsou vyvolávány nebo naopak ničeny virovými infekcemi, spočívá hlavní předpokládaný mechanismus antivirové aktivity v modulaci buněčného prostředí. Navíc současné léky, využívající se v terapii virových onemocnění, nemají hepatoprotektivní účinky a jejich mechanismus účinku spočívá pouze v zásahu do některého životního stádia viru, proto kombinace těchto látek se silymarinem může potenciálně zlepšit stav pacienta. [14]

3.3. Jednotlivé obsahové látky Silybum marianum

3.3.1. Flavonolignany

Flavonolignany jsou podskupinou flavonoidních látek, která tvoří nejvíce zastoupenou a nejdůležitější skupinu obsahových látek v ostropestrci, zodpovědnou za jeho účinky. Tvoří až 70-80 % všech obsahových látek. Nejcennější složkou je právě silymarin, což je komplex flavonolignanů. Jedná se o izomerní směs flavonolignanů. [9] Nejvyšší koncentrace silymarinu najdeme v plodech, které můžou poskytnout 1,5 až 3 % tohoto komplexu látek. Hlavní složky silymarinu jsou silybin A, silybin B, isosilybin A, isosilybin B, silykristin A, silykristin B a silydianin. (Obr. 2) Prvních šest látek existuje jako ekvimolární směsi, jako trans-diastereoizomery. [10] Největší část silymarinového komplexu tvoří silybin, uvádí se v 50-70 %, a zároveň je také primárním nositelem účinku. [15] V plodech ostropestrce byly izolovány i další chemicky příbuzné látky flavonolignanům, avšak v nižších koncentracích. Jedná se o: dehydrosilybin, desoxysilykristin, desoxysilydianin, silandrin, silybinom, silyhermin a neosilyhermin. Jejich společným rysem je přítomnost flavonolignanového skeletu. [10]

Obr. 2 : Chemická struktura jednotlivých složek silymarinového komplexu

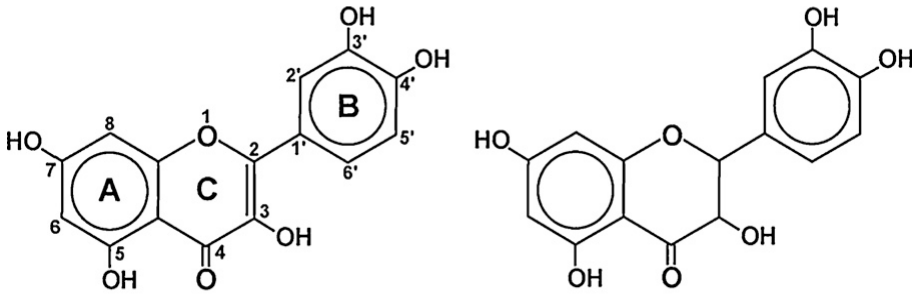


Zdroj: Dostupné z: [10]

3.3.2. Flavonoidy

Kromě flavonolignanů obsahuje plod ostropestrce další flavonoidy, a to: taxifolin (=dihydrokvercetin), kvercetin, dihydrokaempferol, kaempferol, apigenin, naringin, eriodyktiol a chrysoeriol. [16] Flavonoidy jsou polyfenolové sloučeniny, jejichž základní struktura je tvořena dvěma benzenovými kruhy, které jsou vázané tří-atomovým heterocyklickým uhlíkovým řetězcem. [15] (Obr. 3)

Obr. 3 : Chemická struktura kvercetinu a taxifolinu



Quercetin Dihydroquercetin

Zdroj: Dostupné z [33]

3.3.3. Ostatní obsahové látky

Další obsažené látky v ostropestrci jsou: olej s vysokým podílem nenasycených mastných kyselin (jedná se převážně o kyselinu linolovou, olejovou a palmitovou), vitamin E, steroly (cholesterol, kampesterol, stigmasterol a sitosterol), cukry (nejvíce zastoupené: arabinóza, rhamnóza, xylóza a glukóza), bílkoviny. Dále biogenní aminy, jako je tyramin a histamin, silice a hořčiny. [16]

3.4. Biologická dostupnost a farmakokinetika silybinu

Silybin, hlavní účinná látka silymarinového komplexu, má vysoce hydrofobní a neionizovatelnou chemickou strukturu. Díky tomu se vyznačuje velmi špatnou rozpustností ve vodě a ta je jednou z příčin jeho nízké biologické dostupnosti. Rozpustnost se uvádí nižší než 50 μg / ml. Provedené studie na modelech potkanů ukázaly, že absolutní biologická dostupnost čisté formy silybinu po perorálním podání je přibližně 0,95 %. [16]

Biologická dostupnost se dá zvýšit několika způsoby. Např. přidáním solubilizačních látek do standardního přípravku se silymarinem.

Perorální biologickou dostupnost silybinu lze také zvýšit použitím fosfatidylcholinu při přípravě silybinu, čímž vznikne fytosomální komplex fosfatidylcholinu a silybinu. Fytosomy jsou fytolipidový transportní systém, který vytváří most mezi konvekčními dodávacími systémy a novými dodávacími systémy. Silybin se z tohoto komplexu rychle absorbuje z gastrointestinálního traktu, což je pravděpodobně mechanismus, kterým se zvýší jeho biologická dostupnost. [16]

Pro zlepšení biologické dostupnosti silybinu byl vytvořen další komplex, a to kombinace silybinu, fosfatidylcholinu a vitaminu E. Touto kombinací se výrazně zvýší rozpustnost silybinu a následně i biologická dostupnost.

Dalším způsobem je tvorba směsných micel žlučových solí, jako je např. silybin-sodná sůl cholátu/fosfolipidu. Pomocí žlučových solí lze zvýšit orální biologickou dostupnost ve vodě špatně rozpustných léků, zlepšením transportu lipofilních látek přes biologické membrány.

Jeden z nejslibnějších způsobů ke zvýšení biologické dostupnosti je samo-mikroemulgující systém dodávání léčiv (=SMEDDS). Tento systém dodávání léčiv využívá mikroemulze s chemickou látkou a používá se zejména pro transport hydrofobních léčiv. Formulace SMEDDS je izotropní směs léčiva, oleje, emulgátoru a koemulgátoru. Tyto látky za mírného míchání po zředění vodnými fázemi vytvoří jemnou mikroemulzi typu olej ve vodě (o/v), s velikostí částic menší než 100nm. Jedná se o spontánní tvorbu emulze v gastrointestinálním traktu, která představuje léčivo v solubilizované formě, a navíc malá velikost vytvořených kapiček poskytuje velký povrch pro absorpci léčiva, čímž lze velmi dobře zvýšit biologickou dostupnost léčiva.

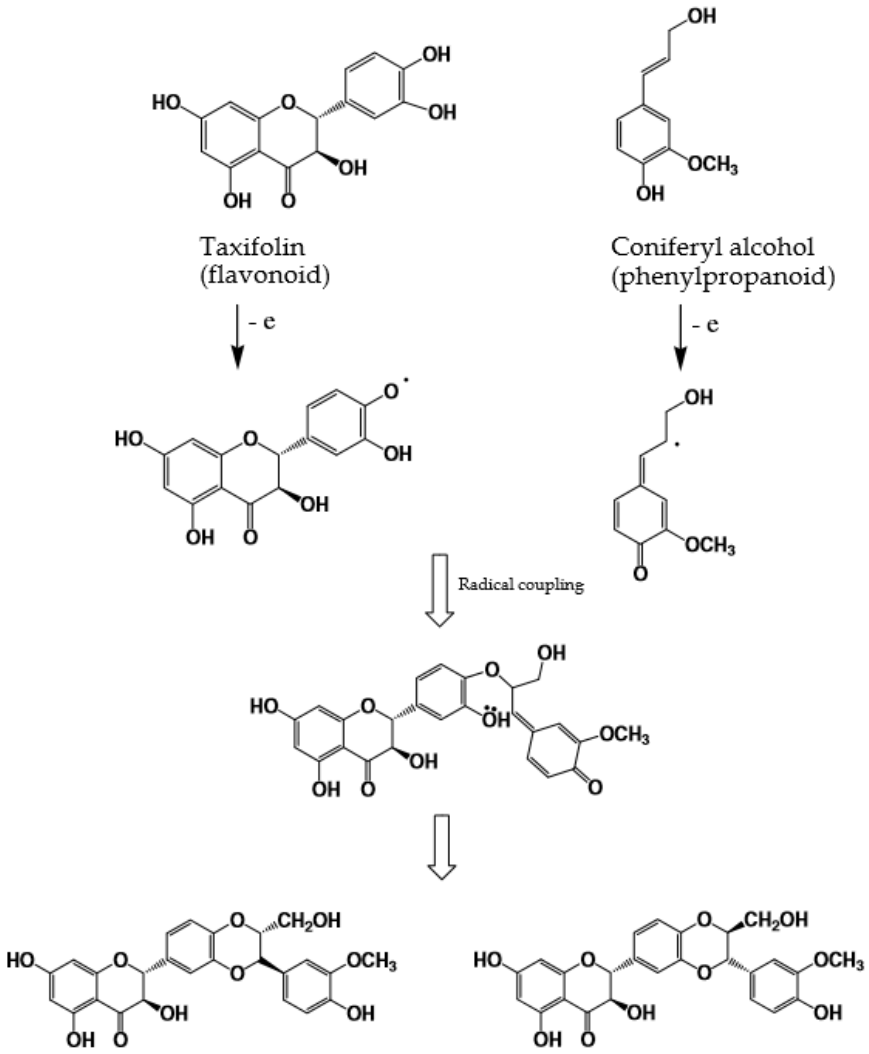
Jiné metody mohou být např. vytvoření specifických nanoemulzí a nanosuspenzí nebo použití disperze superkritických tekutin. [16]

3.5. Biosyntéza silybinu

Silymarinový komplex lze získat extrakcí přímo z rostliny nebo ho můžeme připravit biosynteticky.

Flavonolignany jsou látky, které se skládají z flavanolu taxifolinu a molekuly koniferylalkoholu. Biosyntéza silybinu probíhá oxidativní radikálovou adicí koniferylalkoholu na taxifolin, za katalýzy enzymem peroxidázou. V průběhu reakce vznikají vysoce reaktivní radikály, jež se mezi sebou následně spárují. Dochází tak k reakci mezi volnými radikály vznikajícími z taxifolinu a koniferylalkoholu. (Obr. 4) Koniferylalkohol tvoří spolu se sinapylalkoholem a p-kumarylalkoholem základní stavební jednotky ligninu, po němž dostala tato skupina flavonoidních látek název flavonolignany. Ostatní flavonolignany vznikají také reakcí koniferylalkoholu a taxifolinu, ale jiným mechanismem. [9,10,37]

Obr. 4 : Biosyntéza hlavní účinné látky - silybinu



Zdroj: Upraveno dle [10]

4. Kardiovaskulární účinky

Kardiovaskulární onemocnění patří celosvětově mezi hlavní příčiny morbidity a vůbec nejčastější příčinu úmrtí. Proto pozornost byla zaměřena na hledání nových možností v léčbě těchto chorob, a to i v oblasti bylinné terapie. Silymarin patří mezi nejčastěji zkoumané látky a ukazuje se, že jeho farmakologické spektrum účinku bude ještě širší. Z dostupných studií vyplývá, že silymarin vykazuje pozitivní efekt také v prevenci a terapii některých kardiovaskulárních chorob.

4.1. Ateroskleróza

Ateroskleróza je chronické zánětlivé a progredující onemocnění cévní stěny, charakterizované akumulací lipidů, dalších složek krve a fibrózní tkáně v intimě arterií, jež se manifestuje vznikem aterosklerotických plátů.

Prvním a také vratným stádiem aterosklerózy je endotelová dysfunkce. Při aktivaci endotelu dochází současně k tvorbě cytokinů, adhezních molekul a růstových faktorů. Chemické signály z místa léze přitahují monocyty do subendotelového prostoru, kde se mění na makrofágy. Dochází ke zvýšení permeability endotelové výstelky a do subendotelového prostoru prochází další lipoproteinové částice. Působením kyslíkových radikálů z aktivovaných buněk dochází k oxidaci lipoproteinových částic. Ty jsou následně pohlcovány makrofágy za vzniku tzv. pěnových buněk. K vychytávání cholesterolu do makrofágů slouží tzv. scavengerové receptory na jejich povrchu. Nahromaděné pěnové buňky nejsou schopny migrovat zpět do krevního oběhu. Lipidy se kumulují v subendotelovém prostoru a tvoří základ lipidového jádra aterosklerotického plátu. Makrofágy dále přitahují neutrofily a T-lymfocyty, dochází k rozvoji zánětu, což je doprovázeno proliferací vaziva a migrací hladkých svalových buněk z tunica media do jádra ateromu. Plát se dále vaskularizuje cévami, a to společně s rozvojem zánětu vede k destabilizaci plátu. V plátu se ukládají také vápenaté soli. V důsledku toho, se stěna cévy v průběhu tvorby plátu ztlušťuje, lumen cévy se tedy zužuje a snižuje se i pružnost cévy. Následně může dojít k ruptuře fibroateromu a k vytvoření krevní sraženiny, která cévu částečně nebo úplně uzavře. To vede k onemocněním jako je infarkt myokardu, ischemická choroba srdeční, cévní mozková příhoda nebo ischemická choroba dolních končetin.

Rizikové faktory, jež mohou urychlit rozvoj aterosklerózy se dělí na ovlivnitelné a neovlivnitelné. Mezi neovlivnitelné patří věk, pohlaví (protektivní vliv estrogenů u žen), rodinná a osobní anamnéza. Ovlivnitelné jsou: zvýšený celkový cholesterol a lipoprotein o nízké hustotě (LDL), snížená hladina lipoproteinu o vysoké hustotě (HDL), kouření, hypertenze, diabetes mellitus, fyzická inaktivita, obezita, oxidační stres, zvýšený homocystein, zvýšené zánětlivé markery (např. C-reaktivní protein), zvýšené trombogenní faktory a další. Ukazuje se, že silymarin má pozitivní vliv na velkou část těchto rizikových faktorů, tudíž ovlivňuje jednotlivé stavy, které přispívají k rozvoji aterosklerózy.

4.1.1. Vliv silymarinu na aterosklerózu

Z experimentálních studií bylo zjištěno, že složky silymarinového komplexu mají pozitivní vliv na cévní endotel a také na vaskulární rigiditu. Dále silymarin chrání buňky před oxidačním stresem, má příznivý vliv na lipidový profil. Vykazuje antidiabetické a antihypertenzní účinky, ovlivňuje funkci trombocytů. Tudíž všechny tyto pozitivní účinky by mohly snížit rozvoj a komplikace aterosklerózy. [17]

4.2. Působení silymarinu na endotel cév

Endoteliální dysfunkce je jedna z hlavních událostí v patogenetické kaskádě vedoucí ke kardiovaskulárním příhodám. Proto terapie zaměřené na zachování endotelu jsou zapotřebí pro účinnou prevenci kardiovaskulárních onemocnění.

Endotel je vrstva epiteliálních buněk, lemující krevní luminální povrch cév. Jedná se o dynamický endokrinní orgán, který plní velké množství fyziologických funkcí. Reguluje vaskulární tonus, podílí se na adhezi leukocytů k cévní stěně, čímž ovlivňuje imunitní a zánětlivé reakce. Dále se účastní při aktivaci krevních destiček v důsledku uvolňování vazoaktivních látek, jako je oxid dusnatý (NO), prostacyklin a endotelin. [18] Za fyziologických podmínek je endotel vysoce antitrombogenní a podílí se na zajištění správné hemostatické rovnováhy. Hraje klíčovou roli v regulaci průtoku krve a ovlivňuje permeabilitu kapilár. V neposlední řadě má vliv na modifikaci lipoproteinů a také produkuje růstové faktory, kterými se podílí na proliferaci buněk cév. [19]

Dysfunkce endotelu je charakterizována posunem v působení endotelu směrem ke snížené vazodilataci, což je výsledkem redukované propustnosti pro NO, dále k prozánětlivému stavu a protrombotickým vlastnostem. Volné radikály mohou narušit rovnováhu NO, poškodit endotel a nechat jej příliš propustný, což umožňuje toxinům pronikat do tělesných tkání. [19] A právě zde mohou uplatnit své účinky flavonolignany.

Endoteliální dysfunkce může být způsobena několika stavy jako je např. diabetes nebo metabolický syndrom či fyzická inaktivita. U diabetických pacientů je dysfunkce endotelu, způsobená zejména sníženou biologickou dostupností NO, hlavní patogenetickou událostí, jež může vést ke kardiovaskulárním onemocněním. Tímto problémem se zabývala studie, jejímž cílem bylo vyhodnotit účinek silybinu na endoteliální dysfunkci a hodnoty ADMA u obézních diabetických myší. ADMA = asymetrický dimetylarginin, je endogenní inhibitor syntázy oxidu dusnatého, který hraje klíčovou roli v endoteliální dysfunkci a ukazuje na zvýšené kardiovaskulární riziko. Zvýšené hladiny ADMA byly identifikovány jako biomarker endoteliální dysfunkce. Osm týdnů starým diabetickým myším byla podávána denní dávka 20mg/kg silybinu i.p. nebo vehikula po dobu čtyř týdnů. Heterozygotní štíhlé myši sloužily jako kontrola. Hladiny ADMA v plazmě, aortě a játrech byly měřeny pomocí ELISA. Dále se hodnotila vaskulární aktivita na fenylefrin, acetylcholin a nitroprusid sodný v izolovaných segmentech aorty a biochemické parametry jako je hladina glukózy a inzulinu nalačno.

Po vyhodnocení výsledků byly hladiny ADMA v plazmě a aortě vyšší u diabetických než u kontrolních hubených myší. Podávání silybinu výrazně snížilo plazmatický i aortální ADMA. Hladiny ADMA v plazmě a aortě vykazovaly pozitivní korelaci, zatímco ADMA v játrech nepřímo korelovaly jak s koncentracemi ADMA v plazmě, tak v aortě. Molekulární základ této nepřímé korelace však není objasněn. Z měření také vyplývá, že podstatné snížení hladiny ADMA je spojeno se zlepšením inzulinové rezistence, jelikož silybin snížil také hladinu glukózy i lačného inzulinu. Studie potvrdila, že plazmatické hladiny ADMA se u diabetických pacientů zvyšují podobně jako u diabetických zvířat. Léčba silybinem tedy prokázala pozitivní efekt na zlepšení endotelové dysfunkce. [18]

Volné radikály mohou narušit rovnováhu NO, poškodit endotel a nechat jej příliš propustný, což umožňuje toxinům pronikat do tělesných tkání. [19] Na to navazuje další studie, která se snažila prokázat ochranný účinek ostropestrce mariánského, zejména

silybinu, proti oxidačnímu stresu vyvolaného působením vysoké koncentrace glukózy na endoteliální buňky. Oxidační stres při hyperglykémii se podílí na mikro- a makrovaskulárních komplikacích diabetu 2.typu. K navození oxidačního poškození buněk bylo použito 30mM glukózy a projevilo se jako významné snížení redukovaného glutathionu a významné zvýšení aktivity proteinových karbonylů a antioxidačních enzymů. Pro posouzení ochranného účinku silymarinového extraktu na endoteliální buňky se pracovalo s koncentrací 5-25 μg/ml tohoto extraktu.

Měření ukázalo, že silymarinový extrakt opět zvýšil hodnoty sníženého glutathionu a vyvážil zvýšené karbonyly a enzymatickou aktivitu. Dokonce i samotný silybin navrátil zpět snížený glutathion a antioxidační enzymy. Ochranný účinek Silybum marianum na endoteliální buňky proti oxidačnímu poškození byl tedy v tomto modelu prokázán. Tento účinek je zprostředkován pomocí modulace antioxidační enzymové aktivity, zvýšením hladiny glutathionu a vyvážení proteinových karbonylů. [20]

Zdravý cévní endotel se podílí na modulaci rovnováhy vaskulárních funkcí syntetizováním a vylučováním vazoaktivních látek, zejména NO, který je hlavním vazodilatačním regulátorem vaskulárního tonu, a prostaglandinů. Stárnutí endoteliálních buněk zhoršuje vazodilataci závislou na endotelu, která je spojena se zvýšenou aktivitou arginázy, sníženou expresí eNOS (endotelová NO-syntáza, pomocí které se odvozuje NO) a zvýšeným oxidačním stresem. Pokud jsou ROS (reaktivní druhy kyslíku) zvýšené, reagují s existujícím NO, snižují jeho biologickou dostupnost, tudíž i funkce NO a podílejí se na zánětlivém procesu stárnutí vaskulatury. To má za následek snížení kontraktility cév. Stárnutí tedy vede k endoteliální dysfunkci a vaskulární ztuhlosti.

Následující dvě studie se zabývaly stárnutím endoteliálních buněk a jejich společným cílem bylo prokázat terapeutický účinek silymarinu na vaskulární funkce u starších potkanů. [21,22] V první z nich se autoři snažili určit jak bezpečnost a účinnost silymarinového extraktu na endotel a funkci hladkého svalstva u starších potkanů, tak i vztah mezi jeho účinkem a NO nebo cyklooxygenázou (COX) zprostředkovanou aktivitou. Studie byla provedena na získaných kruzích z izolovaných aort 22- měsíčních potkanů. U takto starých potkanů bylo totiž zjištěno, že dochází k poškození funkce hladkého svalstva. 3-4 měsíce staří potkani sloužili jako mladé kontroly. Každý kruh byl inkubován se silymarinem, silymarinem + l-nitro-argininmetylesterem nebo silymarinem

+ indometacinem. Na endotelu závislé/nezávislé relaxační odpovědi byly získány s použitím acetylcholinu a nitroprusidu sodného.

Výsledky této studie ukazují, že silymarinový extrakt je potenciálním kandidátem pro prevenci a léčbu poškození endoteliálních buněk stárnutím vyvolaného oxidačním stresem. Možné okamžité mechanismy pro zvrácení endoteliální dysfunkce pomocí silymarinu ve stárnutí mohou být spojeny s jeho účinkem na dráhu NO, antagonistické vlastnosti vápníku a antioxidanty. Nikoliv přes prostaglandiny, tedy cestou modulace COX. [21]

Nejen stárnutí, ale i úbytek estrogenu může vést k endoteliální dysfunkci. Protektivní účinek silymarinu na endotel cév závisí na jeho antioxidačních a fytoestrogenních vlastnostech. Touto teorií se zabývala pracovní skupina Demirci et al. Zkoumali vliv silymarinu na vaskulární ztuhlost starých menopauzálních samic potkanů, a zároveň zapojení estrogenní aktivity do tohoto účinku. Ke studii byly použity izolované aorty od 22- měsíců starých potkanů, po 18cti měsících sledování ovariektomie (OVX). Každý kruh byl inkubován v tkáňové lázni buď se silymarinem a 17P-estradiolem nebo v přítomnosti silymarinu a fulvestrantu, což je antagonista estrogenních receptorů. Kruhy s nepoškozeným endotelem byly předem dodávané s fenylefrinem nebo draslíkem. Na endotelu závislé či nezávislé relaxační odpovědi byly získány za použití acetylcholinu a nitroprusidu sodného.

Z výsledků vyplývá, že fenylefrinová senzitivita byla významně zvýšena u potkanů OVX, relaxační odpovědi byly významně nižší u starých potkanů OVX ve srovnání s mladými potkany. I přes přítomnost estrogenového antagonisty okamžitá léčba silymarinem obnovila endoteliální funkci a cévní tonus lépe než nahrazení estrogeny. A navíc, jako doplňkový a alternativní lék, při akutním užívání nezpůsobuje estrogenní vedlejší účinky. [22]

4.3. Vliv silymarinu na krevní tlak

Vysoký krevní tlak je jeden z hlavních rizikových faktorů vedoucí ke kardiovaskulárním onemocněním, jež patří k nejčastějším příčinám úmrtí v průmyslových zemí. Může vést k rozvoji cévní mozkové příhody, ischemické choroby srdeční, která se může projevit infarktem myokardu. Chronická hypertenze se dále může podílet na srdečním selhání, selhání ledvin, způsobit oční obtíže a jiné další problémy. Je to také jeden z rizikový faktorů, podílející se na rozvoji aterosklerózy.

Angiotensin II a endotelin-1 jsou silné vazokonstrikční peptidy, které hrají ústřední roli v regulaci krevního tlaku. Oba peptidy uplatňují své pleiotropní účinky prostřednictvím vazby na své příslušné receptory spojené s G-proteinem, tj. receptory angiotensinu 1 (AT1) a receptory endotelinu typu A a typu B. Angiotensin II je hlavní mediátor pro renin-angiotensinový systém (RAS). Je zodpovědný za periferní vasokonstrikci, uvolňuje noradrenalin ze sympatického zakončení, reabsorbuje sodík v ledvinách, podílí se na sekreci aldosteronu, růstu vaskulárních hladkých buněk a kardiomyocytů. Dysregulace některé ze složek RAS je spojená s patogenezí hypertenzních poruch. Terapie těchto poruch je tedy založena na blokádě jednotlivých komponent RAS. Endotelin-1 je spojený s mnoha kardiovaskulárními poruchami, jako je chronické srdeční selhání, onemocnění ledvin, hypertenze, a další. Oba endotelinové receptory se signalizují přes cestu vápník/fosfolipáza, která zvýšením intracelulárního vápníku zprostředkuje kontrakci buněk hladkého svalstva cév. [23, 24]

Ve studii Bahem et al. se autoři zabývali několika strukturně odlišnými rostlinnými sloučeninami se známým kardioprotektivním účinkem, včetně silybinu. Jejich cílem bylo vyhodnotit schopnost těchto sloučenin modulovat vápníkovou signalizaci výše uvedených receptorů. Byl použit celulární luminiscenční čtecí systém, ve kterém se měřila intracelulární signalizace vápníku v ovariálních buňkách čínského křečka, které exprimují na apo-aequorinový protein citlivý na vápník. Autoři zjistili, že silybin je antagonistou receptoru AT1 lidského angiotensinu, zatímco neměl žádný účinek na endotelinový typ A nebo typ aktivace receptoru B. Pomocí neradioaktivního buněčného odečítacího systému se identifikovala nová farmakologická vlastnost silybinu. [23]

Inzulinová rezistence (IR) představuje běžný patofyziologický mechanismus diabetu typu 2 a arteriální hypertenze. Hodnota 1-hodinové plazmatické glukózy po

zatížení, která je ≥ 155 mg/dl (1 h vysoká (=1-hh)) během orálního testu tolerance glukózy je schopna identifikovat subjekty s normální glukózovou tolerancí (NGT), ale u kterých je vysoké riziko výskytu diabetu 2. typu. V souladu s tím vykazují hypertoničtí pacienti s 1-hh NGT nepříznivý metabolický profil charakterizovaný vyšší IR, subklinickým zánětem a vícenásobným poškozením cílových orgánů, podobně jako u jedinců s narušenou tolerancí glukózy.

Studie Sciacqua a spol. si kladla za cíl zhodnotit účinky komplexu silybin + vitamín E + fosfolipidy na zánětlivé, metabolické a vaskulární parametry u hypertenzních pacientů s 1-hh NGT. Tato pilotní, jednoramenná, intervenční, longitudinální studie zahrnující 50 kavkazských 1-hh NGT vysoce hypertenzních pacientů, 27 mužů a 23 žen ve věkovém rozmezí 42–60 let, ukazuje, že šestiměsíční léčba perorálním komplexem obsahujícím silybin, fosfatidylcholin a vitamin E indukuje ve skupině nově diagnostikovaných hypertenzních pacientů významné zlepšení metabolického a zánětlivého profilu. Léčba silybinem je schopna snížit jak hladinu glukózy a hladinu inzulínu nalačno, tak i glukózy a biologickou dostupnost inzulínu během orálního glukózového tolerančního tesu, se zvýšením indexu Matsuda, což potvrzuje jeho pozitivní dopad na stav inzulinové rezistence. Současně bylo prokázáno významné zlepšení všech parametrů souvisejících s vaskulární rigiditou v důsledku snížení AUC inzulínu 0 - 120min po léčbě silybinem, Je proto pravděpodobné, že pozitivní účinek na inzulinovou rezistenci, mitochondriální funkci a inhibici oxidačního stresu mohou představovat klíčové mechanismy vaskulárního ochranného účinku silybinu a tyto účinky mohou odůvodňovat snížení arteriální rigidity, jak bylo prokázáno v této studii. Z toho lze usuzovat, že zlepšení vaskulární rigidity může mít za následek snížení jak klinického, tak centrálního systolického krevního tlaku, se zlepšením klinického a centrálního pulzního tlaku, jak bylo pozorováno u testovaných subjektů. Závěrem studie ukazuje, že silybin může zlepšit metabolický aspekt a poškození cév u pacientů s hypertenzí a s 1-hh NGT po zátěži plazmatické glukózy ≥ 155 mg/dl, která se vyznačuje vyšším metabolickým a kardiovaskulárním rizikem. Studie také naznačuje, že u pacientů s hypertenzí rezistentních na inzulín může silybin posílit účinek antihypertenziv zlepšením metabolického stavu a poskytnout další vaskulární ochranu. [24]

Téměř 85 % pacientů s metabolickým syndromem trpí hypertenzí. Bylo zjištěno, že inzulinová rezistence a centrální obezita jako hlavní patofyziologické faktory metabolického syndromu souvisejí se zvýšením krevního tlaku. Další studie zaměřená na

účinek silymarinu v rámci metabolického syndromu si dala za cíl ucelit informace z dostupných studií na zvířatech i lidech, týkajících se účinku silymarinu na jednotlivé složky metabolického syndromu, tedy včetně efektu na krevní tlak. [25]

Dle výsledků studie o hypotenzním účinku silybinu na spontánně hypertenzních potkanech lze naznačit, že silybin může být nápomocný při snižování úmrtnosti u hypertoniků s poruchou komorové hypertrofie a infarktem myokardu. Další studie na novorozeneckých srdečních myocytech a fibroblastech indukovaných angiotensinem 2 ukázala, že silybin sice nemůže ovlivnit krevní tlak, ale může inhibovat fibrózu vyvolanou aortálními pruhy snížením mediátorů fibrózy vyvolané angiotensinem 2. [25]

Co se týče klinických výsledků, tak studie u pacientů s diabetem 2. typu se zjevnou nefropatií, kteří dostávali tři tablety po 140 mg silymarinu denně po dobu 3 měsíců, neprokázala žádný rozdíl mezi subjekty se silymarinem a kontrolní skupinou v systolickém a diastolickém krevním tlaku. Další klinická studie zabývající se kombinaci S. marianum, Allium sativum, Aloe vera, Nigella sativa, Plantago psyllium a Trigonella foenum-graecum u pacientů s pokročilým stadiem diabetu 2. typu po dobu 40 dnů vyhodnotila, že tato kombinace neměla významný účinek na krevní tlak. To následně potvrdila i kombinovaná terapie se S. marianum (200 mg silymarinu), Boswellia serrata (kadidlovník) a U. dioica, podávané 3x denně u pacientů s diabetem 2. typu po dobu 90 dnů. [25]

Závěrem je, že ačkoli některé studie in vivo a in vitro uváděly antihypertenzní účinek ostropestrce a jeho ochranu před komplikacemi vysokého krevního tlaku, jako je srdeční hypertrofie, tak klinické studie tyto zprávy nepodporují. Proto je potřeba provést další studie.

4.4. Antioxidační účinky silymarinu

Oxidační stres hraje významnou roli v patogenezi kardiovaskulárních onemocnění (CVD), včetně aterosklerózy, vaskulární endoteliální dysfunkce, hypertenze, ischemické choroby srdeční, kardiotoxicity, kardiomyopatie a také srdečního selhání. Výsledkem buněčného oxidačního stresu je uvolňování toxických volných radikálů, což jsou reaktivní druhy kyslíku (ROS) s nepárovým volným elektronem, endoteliálními buňkami a buňkami hladkého svalstva cév. Ty následně interagují s buněčnými složkami, jako jsou proteiny, DNA nebo lipidy, což vede ke kardiovaskulární patologii. Hlavní oxidanty, které hrají klíčovou roli v patogenezi CVD jsou superoxid a radikál oxidu dusnatého. Antioxidanty jsou látky, které neutralizují volné radikály. Bylo zjištěno, že silymarin má antioxidační účinky a poskytuje tak ochranu v boji proti kardiovaskulárním poruchám, způsobených oxidačním stresem. Cílem následujících studií je odhalit mechanismy antioxidačního působení silymarinu. [26, 67]

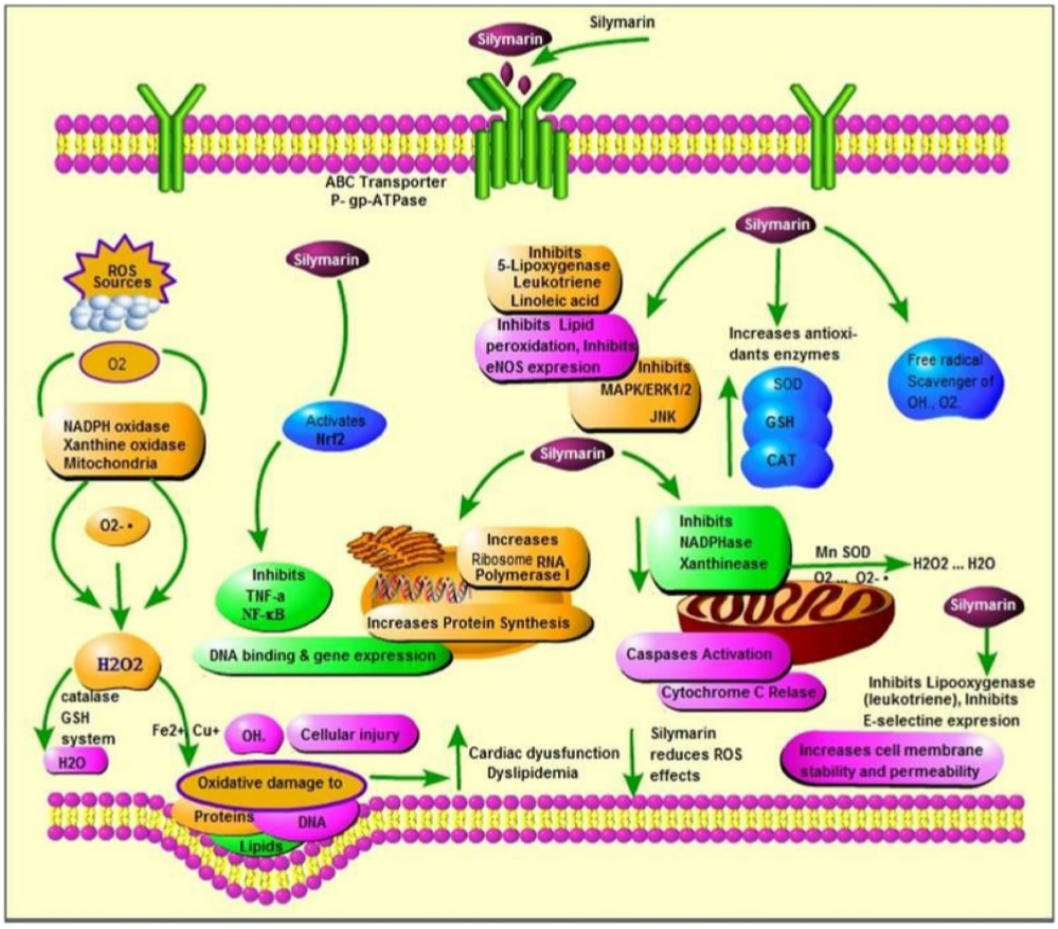
Silymarin zabraňuje CVD několika způsoby: (Obr. 5)

1) Zachycuje volné radikály (zejména $O2^{\cdot -}$-superoxidový radikál a $OH^{\cdot}$-hydroxylový radikál) a také je chelatačním činidlem pro kovy, jako je Fe a Cu. Silymarin je i silným vychytávačem HClO, čímž inhibuje tvorbu hydroxylových radikálů. Minimalizuje nadměrnou produkci ($O2^{\cdot -}$) v xanthin oxidázové aktivitě a zabraňuje hemem zprostředkované oxidační modifikaci LDL. Studie uvádějí, že silydianin a silykristin mají vyšší vychytávací schopnost než silybin.
2) Zabraňuje tvorbě volných radikálů inhibicí specifických enzymů vytvářejících ROS v mitochondriích, které jsou hlavním místem tvorby ROS. Mezi tyto enzymy patří: NADPH oxidáza, xanthinoxidáza a α-ketoglutarátdehydrogenáza.
3) Aktivuje antioxidační enzymy a inhibuje peroxidaci lipidů. Silymarin má schopnost aktivovat neenzymatické i enzymatické antioxidanty. Obnovuje enzymatickou antioxidační aktivitu superoxiddismutázy (SOD), katalázy (CAT) a glutathionperoxidázy (GSH), čímž minimalizuje srdeční toxicitu, způsobenou volnými radikály, v důsledku snížené funkce těchto enzymů. Oxidační stres se také podílí na vývoji aterosklerotických lézí. Silymarin snižuje zánětlivou oxidaci lipidů a progresi aterosklerózy prostřednictvím modulace enzymatické degradace kyseliny arachidonové cyklooxygenázou a lipoxygenázou a snižuje oxidaci LDL.
4) Reguluje permeabilitu a zvyšuje stabilitu buněčné membrány. Váže se na membránové proteiny a moduluje funkce transportérů a receptorů umístěných v

buněčných membránách. Silymarin snižuje absorpci xenobiotik. U transmembránových molekul silymarin inhibuje expresi adhezních molekul (např. E-selektin) na povrchu leukocytových endoteliálních buněk, které hrají důležitou roli v regulaci adheze buněk. Také interaguje s ABC transportéry, čímž se podílí na jejich účincích spojených s aktivitou P-glykoproteinu.

5) Zvyšuje syntézu ribozomálních proteinů v poškozených buňkách stimulací enzymu RNA polymerázy.
6) Reguluje signální aktivaci transkripčního faktoru Nrf2, který je považován za redoxsenzitivní hlavní regulátor signalizace oxidačního stresu. Může být aktivován několika mechanismy, např. stabilizací Nrf2 pomocí Keap1 cysteinové modifikace. Tento mechanismus využívá také silymarin, což následně vede ke zvýšené expresi genů kódujících cytoprotektivní molekuly a enzymy antioxidantů. Silymarin také inhibuje dráhu NF-κB (nukleární faktor kappa B). Jedná se o transkripční faktor, který je zodpovědný za regulaci mnoha buněčných procesů. NF-κB se nachází v cytoplazmě a zahrnuje proteinové skupiny, které se mohou vázat na DNA. Je aktivován stimuly, jako je oxidační stres a reguluje transkripci řady genů. Silymarin inhibuje NF-κB a blokuje aktivaci NF-κB indukovanou TNF-α inhibicí procesu fosforylace a degradace, čímž se snižuje exprese genu NF-κB, a tím se snižuje produkce prozánětlivých cytokinů, a tedy i riziko rozvoje aterosklerózy. [67]

Obr. 5 : Mechanismy antioxidačního působení silymarinu



Zdroj: Dostupné z [67]. *Schematické znázornění zdrojů ROS (NADPH oxidáza, xantinoxidáza, mitochondrie) + výsledné oxidační poškození buněčných proteinů, DNA a lipidů. Silymarin vykazuje mechanismy účinku jako: vychytávač volných radikálů (OH˙, O2·¯), zvyšuje antioxidační enzymy (CAT, SOD, GSH), čímž zvyšuje antioxidační buněčnou obranu a zvyšuje aktivitu mitochondriálních enzymů. Inhibuje také expresi eNOS, aktivuje Nrf2 a inhibuje NF-κB, čímž reguluje genové exprese. Silymarin zvyšuje regenerační schopnost kardiovaskulárních tkání aktivací ribozomů a zvyšuje syntézu proteinů. Stabilizuje buněčnou membránu modifikací transportérů a receptorů buněčných membrán, jako jsou transportéry ABC a peptidy transportu organického aniontu. Silymarin má ochranný účinek na regeneraci buněk v buněčné membráně, zachycuje volné radikály v cytoplazmě a podporuje syntézu ribozomální RNA, čímž se zlepšuje kardiovaskulární dysfunkce a dyslipidémie.*

V případě endoteliální dysfunkce oxidační stres vede ke snížení biologické dostupnosti NO a produkuje škodlivý peroxynitrit. To může způsobit právě dysfunkci endotelu. Silymarin udržuje hladinu oxidu dusnatého, který reguluje endoteliální buňky lidské umbilikální žíly vaskulárního tonu (HUVEC), a proto snižuje endoteliální dysfunkci. [67]

U hypertenze hraje oxidační stres klíčovou roli při její indukci zvyšováním hladin AT II/aldosteronu, H2O2, $O2^{\cdot -}$ a snižováním produkce NO. Hladiny antioxidantů, jako jsou vitamin E, GSH a SOD, jsou u hypertoniků snížené. Hypertenze je také spojena se zvýšenou tvorbou ROS v různých orgánech, včetně vaskulatury, ledvin a mozku. Silymarin má díky své antioxidační aktivitě, která se v případě hypertenze projevuje zvýšením enzymatických hladin (GSH, SOD, CAT) a snížením markerů oxidačního stresu, např. hladinu kyseliny thiobarbiturové a vylučováním K+ močí, antihypertenzní účinky.

Ischemická choroba srdeční je způsobená snížením krevního zásobení srdce v důsledku trombózy, aterosklerózy nebo spasmu koronárních tepen. Bylo zjištěno, že silymarin snížil hladinu ROS u potkana a chránil plíce, játra a ledviny před akutním supraceliálním ischemickým / reperfuzním poškozením břišní aorty. Mechanismy snížení ROS v tomto případě byly: zvýšení hladin antioxidačních enzymů, např. SOD a GSH, dále snížení močoviny, kreatininu a cystatinu v séru. Studie také ukázala, že potkani byli chráněni silymarinem před ischemickým cévním poraněním, prostřednictvím zhášení volných radikálů a snížením zánětem zprostředkovaného poškození tkáně blokováním aktivace prozánětlivých transkripčních faktorů, např. signálního převaděče a aktivátoru transkripce (STAT) -1 a jaderného faktoru NF-κB. [67]

Určujícím faktorem pro městnavé srdeční selhání je srdeční hypertrofie. Z výše uvedeného je známo, že silymarin inhiboval dráhu NF-κB, čímž pomohl zlepšit a zmírnit srdeční hypertrofii. Podávání silybinu blokovalo srdeční hypertrofii inhibicí aktivace NF-κB a snížilo tvorbu receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR). [67]

Kardiotoxicita je charakterizována srdeční elektrofyziologickou dysfunkcí nebo poškozením srdečního svalu. Srdce je následně slabší a není schopné čerpat a cirkulovat krev. Tento stav může být způsoben znečišťujícími látkami v životním prostředí, působením oxidačních činidel, chemoterapeutických léčiv nebo jiných léků,

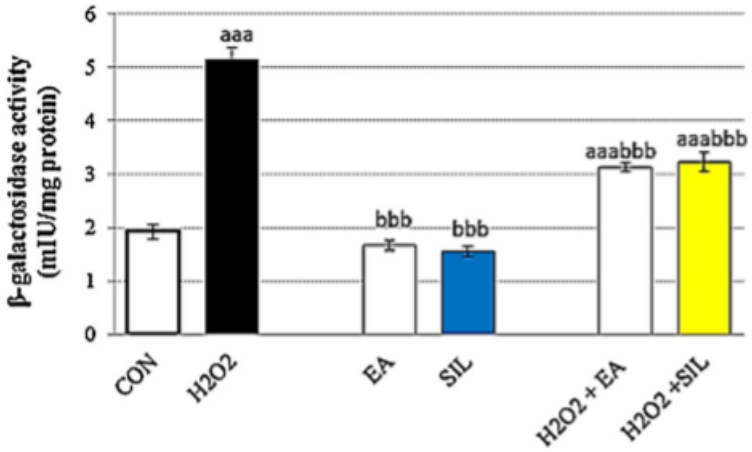
chemikáliemi včetně kovů a v neposlední řadě i oxidačním stresem. Silymarin podávaný potkanům normalizoval biologické parametry, např. hladiny GSH, laktátdehydrogenázy (LDH), kreatinfosfokinázy (CPK) a lipidových peroxidů a chránil srdce inhibicí peroxidace lipidů. Dále chrání srdeční svaly před látkami znečišťujícími životní prostředí, jako je kardiotoxicita vyvolaná akroleinem. Silymarin má výrazné protektivní účinky vůči kardiotoxicitě vyvolané doxorubicinem, mezi které patří vychytávání radikálů, chelatování železa a stabilizace buněčné membrány. Na podávání silymarinu u prevence kardiotoxicity, způsobené protinádorovými léčivy, je zaměřená samostatná pozdější kapitola. [67]

Hypercholesterolémie v kombinaci s arteriální hypertenzí a dalšími rizikovými faktory urychluje proces aterosklerózy. Oxidace LDL a růst buněk hladkého svalstva představují klíčové události v aterogenezi. Zvýšená tvorba ROS může usnadnit oxidaci LDL, tudíž antioxidanty jsou účinné proti ateroskleróze vyvolané hypercholesterolémií snížením hladiny LDL cholesterolu. Silybin prodloužil prodlevy jak autooxidace LDL, tak oxidace mědí o více než 50%, což naznačuje, že silybin má inhibiční účinek na oxidaci LDL. Výsledky rovněž ukázaly po podání silymarinu nižší hladinu triglyceridů, zvýšenou hladinu HDL a sníženou hladinu celkového cholesterolu v arteriích. [26]

Oxidační stres také hraje významnou roli v procesu buněčného stárnutí, což je soubor molekulárních a buněčných změn, odpovědný za vícenásobné strukturální a funkční poškození buněk, tkání a orgánů organismu. Účelem následující studie bylo zhodnotit účinek antioxidačních vlastností silybinu a kyseliny ellagové na stárnutí buněk. Jelikož stárnutí se vyskytuje ve všech embryonálních a individuálních buňkách, tkáních a orgánech, byly k hodnocení vybrány buňky embryonálních fibroblastů potkana (REF), jež se nacházejí ve všech orgánech a tkáních zvířete, které se podílejí na vývoji orgánů, hojení ran a procesu zánětu. Na těchto buňkách se měřila úroveň oxidačního stresu a zánětlivých markerů. Aktivita β-galaktosidázy je spolehlivým biomarkerem pro identifikaci buněčné stárnutí. Jedná se o hydrolázový enzym, který katalyzuje hydrolýzu β-galaktosidázy na monosacharidy v buňkách ošetřených H2O2, v senescentních buňkách a vede ke stárnutí v savčích buňkách a tkáních. V této studii buňky REF ošetřené H2O2 představovaly významné zvýšení koncentrace β-galaktosidázy a prozánětlivých cytokinů a chemokinů. Dále antioxidační potenciál a hladina TTM (hladina přírodního thiolového antioxidantu) byla značně snížena spolu se zvýšením hladiny peroxidace lipidů. [42]

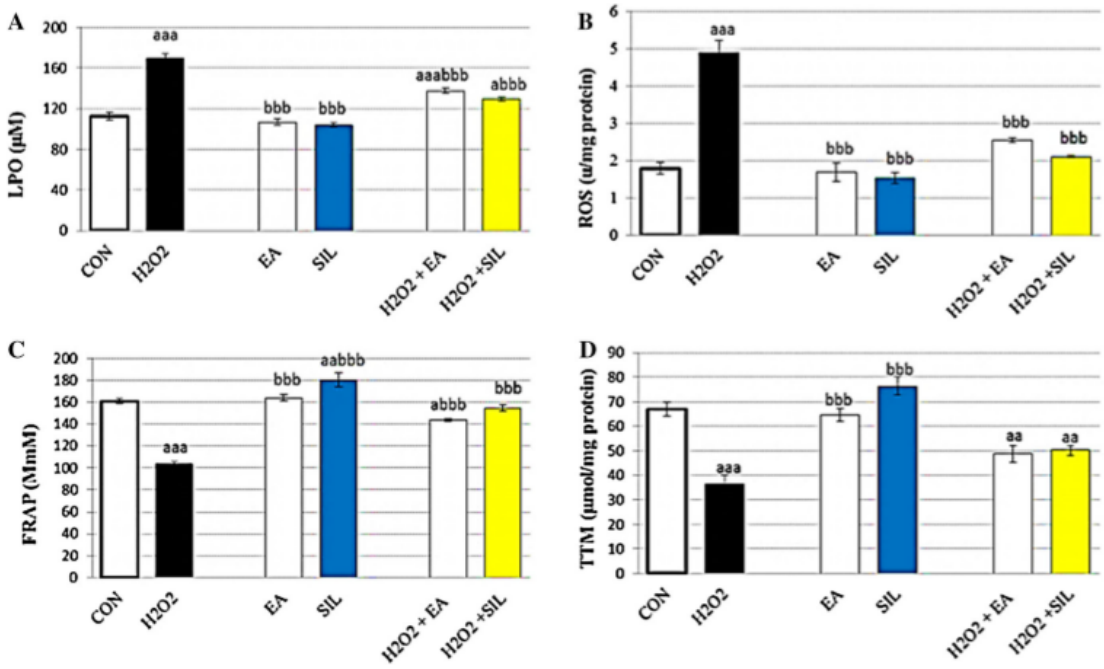
Výsledky ukazují, že po podání silymarinu v buňkách exponovaných H2O2 došlo k snížení hladiny β-galaktosidázy, což naznačuje pozitivní efekt silymarinu vůči buněčnému stárnutí. (Obr. 6) Dřívější studie ukazují, že silymarin inhibuje produkci ROS přímým vychytáváním a inhibicí enzymů produkujících ROS. U REF buněk ošetřených silymarinem byla snížená hladina volných radikálů a ROS, došlo k redukci lipidové peroxidace a hladina TTM výrazně vzrostla, což ukazuje na snížení oxidačního stresu. (Obr. 7) Zánět je lokalizovaná reakce buněk na jakékoli poškození, během kterého buňky likvidují původce a poškozená tkáň uvolňuje prozánětlivé cytokiny. Také NF-κB má klíčovou roli v zánětlivých drahách, jako je exprese prozánětlivých genů, která zahrnuje produkci různých cytokinů a chemokinů. Silymarin výrazně snížil produkci prozánětlivých cytokinů, jako je TNF-α, IL-6 a IL-1β a také významně potlačil transkripční aktivitu NF-κB. Studie naznačily vztah mezi dysfunkcí mitochondrií a buněčným procesem stárnutí. Kromě toho byl u senescentních buněk pozorován pokles mitochondriální komplexní aktivity. V této studii došlo k signifikantnímu zvýšení aktivity mitochondriálních komplexů (I, II a IV) po ošetření REF buněk kyselinou ellagovou a silymarinem ve srovnání s buňkami ošetřenými pouze H2O2.

Obr. 6 : Vliv na aktivitu β-galaktosidázy



Zdroj: Dostupné z [42] *Buňky REF ošetřené H2O2 ve srovnání s kontrolní skupinou (CON) vykazují extrémní nárůst aktivity β-galaktosidázy. Současně byly REF buňky ošetřeny H2O2 + kyselinou ellagovou (EA) a H2O2 + silymarinem (SIL). SIL i EA vykazují výrazně menší množství aktivity b-galaktosidázy ve srovnání se skupinou ošetřenou pouze H2O2.*

Obr. 7 : Vliv silymarinu na jednotlivé ukazatele oxidačního stresu



Zdroj: Upraveno dle [42] *Účinky silymarinu (SIL) a kyseliny ellagové (EA) na biomarkery oxidačního stresu: lipidová peroxidace (LPO), reaktivní druhy kyslíku (ROS), test antioxidační síly redukující železo (FRAP), který se používá k odhadu antioxidačního potenciálu biologických přírodních látek, a hladina thiolového antioxidantu (TTM).*

Tato in vitro studie prokázala antioxidační a protizánětlivé účinky silymarinu proti H2O2 v ošetřených REF buňkách. Jsou však zapotřebí studie in vivo, aby se prokázaly tyto účinky a přesný mechanismus účinku. [42]

Pracovní skupina Roozbeh a spol. se zabývala suplementací silymarinu samotného a také v kombinaci s vitaminem E a jejich vlivem na biomarkery oxidačního stresu u pacientů na hemodialýze. Aterosklerotické kardiovaskulární onemocnění je nejčastější příčinou morbidity a mortality u těchto pacientů a zvýšený oxidační stres ve většině případů také doprovází selhání ledvin. Zvýšený oxidační stres se projevuje chronickým zánětem spojeným s urémií, přítomností stopových množství endotoxinů v dialyzátu, aktivací oxidačního metabolismu v leukocytech dialyzační membránou. Dále také vyčerpáním antioxidantů, jako je vitamin E, glutathion, flavonoidy a antioxidačních enzymů SOD a GSH. Dále jsou zvýšené hladiny malondialdehydu (MDA) v séru, červených krvinkách, krevních destičkách a mononukleárních buňkách periferní krve. Dochází k zvýšené tvorbě oxidačních proteinů, glykosylačních konečných produktů a zvýšené oxidaci lipoproteinů. Suplementace antioxidanty by tedy měla zabránit škodlivým účinkům oxidačního stresu v této populaci. [27]

Studie prokázala, že samotný silymarin nebo v kombinaci s vitaminem E může snížit hladiny MDA a zvýšit RBC GPX (glutathionperoxidázu v červených krvinkách). Účinek na RBC GPX byl statisticky významný ve skupinách léčených silymarinem, vitaminem E a zejména jejich kombinací. Jedním z hlavních výsledků studie bylo snížení konečného produktu lipidové peroxidace, MDA a zvýšení RBC glutathionperoxidázy kombinační léčbou silymarinu s vitaminem E po dobu 3 týdnů. Snížení hladiny MDA po užívání samotného silymarinu nebo vitaminu E nebylo tak významné jako při jejich kombinaci. Rovněž došlo k významnému zvýšení průměrného hemoglobinu ve všech léčených skupinách ve srovnání s kontrolou.

Studie vyhodnotila, že suplementace silymarinu zesiluje antioxidační a antiperoxidační účinky vitaminu E u pacientů na hemodialýze, z čehož vyplývá, že

zvýšení obsahu flavonoidů ve stravě může působit proti zvýšení zátěže oxidačním stresem u hemodialyzovaných pacientů. Obrovským omezením této studie je však malá velikost vzorku a krátká doba sledování. [27]

Antioxidační účinky silymarinu potvrdila i další studie. Ukázala, že silymarin je bylinným lékem, který může chránit biologické systémy před oxidačním stresem a navrhla možné použití silymarinu v prevenci nemocí souvisejících s ROS jako přírodní antioxidační doplněk. [28]

4.5. Působení silymarinu na hladinu lipidů

Vysoké hladiny lipidů a lipoproteinů v séru, především hypercholesterolémie, zvyšují riziko kardiovaskulárních chorob včetně ateroskleózy a periferních vaskulárních chorob. Dyslipidémie je také jedním ze symptomů metabolického syndromu, charakterizovaná zvýšenými plazmatickými hladinami triacylglycerolů (TAG), celkovým cholesterolem (TC), lipoproteiny s nízkou hustotou (LDL) a nízkými koncentracemi lipoproteinů s vysokou hustotou (HDL). V těle je homeostáza cholesterolu vyvažována příjmem cholesterolu v potravě, endogenní syntézou cholesterolu a vylučováním cholesterolu z organismu biliární exkrecí. Celková hladina cholesterolu v plazmě je určena hlavně koncentracemi LDL a HDL částic. Částice LDL představují hlavní způsob transportu cholesterolu z jater do periferních tkání a mají důležitou proaterogenní aktivitu. Naproti tomu částice HDL mají antiaterogenní aktivitu a hrají významnou roli při zpětném transportu cholesterolu z periferních tkání do jater. Kromě toho má HDL důležité antioxidační a protizánětlivé vlastnosti a může bránit adhezi monocytů k endotelu. Nízké hladiny HDL jsou spojeny se zvýšeným rizikem CVD. [29]

Silymarin významně zlepšil plazmatický lipoproteinový profil, např. zvýšením hladin HDL a snížením hladin TAG u potkanů krmených dietou bohatou na cholesterol. Kromě toho silymarin příznivě ovlivňuje obsah lipidů v játrech, inhibuje absorpci cholesterolu, a tím působí proti rozvoji mastných jater, čímž racionalizuje jeho použití k celkovému potlačení hypercholesterolémie. [30,31]

Jednou z důležitých cest eliminace cholesterolu z lidského těla je jeho vylučování usnadněné transportéry vázajícími ATP, tzv. ABC transportéry. Transmembránový ATP

vázající kazetový transportér A1 (ABCA1) hraje klíčovou roli v reverzním transportu cholesterolu (RCT) tím, že přenáší intracelulární cholesterol a fosfolipidy na lipidy chudé na apolipoproteiny. Odtok cholesterolu z makrofágů nebo tkání pomocí ABCA1 je považován za prospěšný při prevenci kardiovaskulárních chorob. Ke ztrátě ABCA1 proteinu dochází u závažných dědičných onemocnění, což je doprovázeno sníženým odtokem cholesterolu a rozvojem aterosklerózy. Klinická studie zjistila, že mutace ABCA1 jsou spojeny se zvýšenou tloušťkou tunica intima a tunica media v důsledku sníženého odtoku cholesterolu. Cholesterolový eflux je prvním krokem RCT a zahrnuje transmembránový přenos intracelulárního cholesterolu na lipoproteiny chudé na extracelulární lipidy. Existuje více druhů transmembránových transportních proteinů s důležitými funkcemi zprostředkujícími odtok cholesterolu, zejména ABCA1, ABCG1 a vychytávací receptor třídy B, člen 1 (SR-B1). Transportní protein ABCA1 je z nich nejdůležitějším proteinem pro transport cholesterolu. O expresi ABCA1 a následném efluxu cholesterolu je známo, že se zvyšuje aktivací receptoru gama aktivovaného proliferátorem peroxizomového jaderného receptoru gama (PPARy).

Vědecká skupina Wang a spol. si proto dala za cíl, zjistit schopnost hlavních bioaktivních složek silymarinového komplexu aktivovat odtok cholesterolu a expresi ABCA1. Výsledky ukazují, že silymarinové složky isosilybin A, silybin B, silykristin, isosilykristin a taxifolin zvyšují expresi ABCA1 v makrofázích. Kromě toho isosilybin A podporuje odtok cholesterolu z makrofágů v závislosti na koncentraci, pravděpodobně díky svým aktivačním vlastnostem přes PPARy. Studie tedy poskytuje možnou vazbu na hypocholesterolemickou aktivitu silymarinu. [32]

Další ze studií zaměřená na vliv silymarinu u dyslipidémie si kladla několik cílů. Prokázat a také porovnat účinnost různých lékových forem silymarinu, a to: standardizovaný extrakt silymarinu (SS), mikronizovaný silymarin (MS) a silymarin ve formě fytosomu (PS) na dyslipidémii a akumulaci jaterního tuku v modelu metabolického syndromu obézního dědičně hypertriglyceridemického potkana. Dalším cílem bylo odhalit působení silymarinu na enzymy a proteiny podílející se na metabolismu a vylučování cholesterolu. [29]

Výsledky ukázaly, že silymarin významně snížil hladiny triglyceridů v plazmě ve všech třech experimentálních skupinách (SS 46%, MS 61%, PS 58%). Celkové hladiny cholesterolu v plazmě byly sníženy ve standardizované skupině ošetřené silymarinem (SS

15%) a u zvířat krmených silymarinem ve formě fytosomu (PS 15%). Potkani ošetření silymarinem měly výrazně vyšší plazmatické hladiny HDL cholesterolu ve srovnání s neošetřenými kontrolami. Konečné hladiny HDL v plazmě byly zvýšeny o 44% pro standardizovanou skupinu silymarinu, o 76% pro mikronizovanou skupinu silymarinu a o 38% pro skupinu krmenou silymarinem ve formě fytosomu.

Druhá nejdůležitější eliminační cesta cholesterolu z lidského těla je pomocí transportérů ABCG5 a ABCG8. Podání silymarinu významně zvýšilo proteinovou expresi transportéru ABCG5 u zvířat krmených silymarinem ve formě fytosomu (PS + 17%). Ve skupině zvířat krmených standardizovaným silymarinem a mikronizovaným silymarinem byl pozorován mírný nárůst, který nedosáhl statistické významnosti. Podobně silymarinem ošetření potkani měli vyšší expresi ABCG8 transportéru. Zvýšení bylo významné u zvířat na výživě obsahující silymarin ve formě fytosomu (PS + 37%).

Podávání silymarinu také vedlo k významnému zvýšení exprese proteinů CYP7A1 a CYP4A. Zvýšení exprese proteinu CYP7A1, jednoho z nejvýznamnějších enzymů, který se podílí na eliminaci cholesterolu, bylo významné u všech potkanů krmených jak standardizovaným silymarinem (SS + 23%), mikronizovaným silymarinem (MS + 46%), tak i silymarinem ve formě fytosomu (PS + 79%). Zvýšení proteinové exprese CYP4A bylo významné u skupiny zvířat krmených silymarinem ve formě fytosomu (PS + 20%). Ve skupinách krmených standardizovaným a mikronizovaným silymarinem byla pozorována tendence ke zvýšení proteinové exprese tohoto cytochromu, ale tyto změny nelze pokládat za statisticky významné.

Závěrem je, že všechny testované formy silymarinu vykazovaly hypotriglyceridemický a hypocholesterolemický účinek, a také zvýšenou hladinu HDL cholesterolu v plazmě při těžké dyslipidémii. Z toho vyplývá, že silymarin může příznivě ovlivnit metabolismus cholesterolu a triglyceridů u potkanů s metabolickým syndromem. Zvýšení hladin HDL naznačuje potenciálně důležitý antiaterogenní účinek silymarinu. Změny v expresi cytochromů P450 a transportérů ABC, které se podílejí na metabolismu a vylučování cholesterolu, mohou být částečně odpovědné za hypolipidemický účinek silymarinu. [29]

Statiny jsou léky, které tvoří základ terapie ke snižování endogenního cholesterolu. Jejich mechanismus účinku spočívá v inhibici 3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzymu A (HMG-CoA) reduktázy. Mezi nežádoucí účinky statinů patří bolest svalů,

únava, slabost, rabdomyolýza, doprovázená zvýšením kreatinfosfokinázy (CPK) a jaterní transaminázy. Kromě rabdomyolýzy se mohou tyto vedlejší účinky objevit až v 10% všech případů, zejména pokud jsou statiny podávány ve vysokých dávkách, což ve většině případů vede až k přerušení léčby u pacientů. Je samozřejmé, že použití nižší dávky statinů může snížit jejich riziko, tedy i vyvolané vedlejší účinky, ale současně to často přispívá k omezení přínosů pro lipidový profil. V důsledku toho se zaměřuje pozornost na použití nutraceutických doplňků stravy. [34,35]

Jedním z nich je vysoce standardizovaná směs (Berberol®K) berberinu, silymarinu a monakolinu K-20 (BSM). Berberin je extrakt z Berberis aristata, využívaný pro hypocholesterolemické a antihyperglykemické vlastnosti. Monakolin K (MK-20) je extrakt získaný z fermentace rýže Monascus purpureus. Monakoliny jsou přirozeně odvozené statiny. Spojení monakolinů s berberinem je považováno za generující farmakodynamickou synergii kvůli protichůdným účinkům berberinu a monakolinů na PCSK9 (proprotein konvertáza subtilisin/kexin typu 9). [34]

Berberin má velmi nízkou perorální biologickou dostupnost, způsobenou zejména efluxním transportérem P-gp. Množství berberinu schopného procházet enterocyty je sníženo přibližně o 90% pomocí P-gp. Z toho vyplývá, že použití potenciálního inhibitoru P-gp nebo chemická modifikace berberinu, která mu umožňuje překonat antagonismus P-gp, může zvýšit jeho špatnou biologickou dostupnost, čímž se zvýší jeho klinická účinnost. Mezi potenciální inhibitory P-gp patří i silymarin. [35]

Autoři další studie proto zkoumali tuto směs BSM u nediabetických pacientů tolerantních k statinům a intolerantních k statinům s dyslipidémií, porovnávali jejich účinky s léčbou s lovastatinem a bez léčby u subjektů s nízkým kardiovaskulárním rizikem. Do této retrospektivní analýzy bylo zařazeno celkem 226 pacientů s diagnózou dyslipidémie, kteří byli rozděleni do 4 skupin. V první skupině bylo 72 subjektů, které sloužily jako neošetřené kontroly díky nízkému kardiovaskulárnímu riziku, druhá skupina s 69 pacienty sloužila jako ošetřené kontroly (lovastatin 20 mg/den). Ve třetí skupině bylo 67 subjektů léčeno potravinovým doplňkem a zbylých 18 bylo statin netolerantních subjektů, léčených potravinovým doplňkem jako doplňková terapie k Absorcol, Ezetrol a Zetia (ezetimibe; 10 mg/den) nebo Fulcro (fenofibrát; 200 mg/den). Na začátku léčby byli všichni účastníci poučeni, aby se řídili hypokalorickou dietou s nízkým glykemickým indexem. Strava s řízenou energií (s denním kalorickým deficitem

přibližně 500–600 kcal) byla založena na 50% kalorií poskytovaných sacharidy, 30% tukem (z toho < 7% nasycených, až 10% polynenasycených a až 20% mononenasycených tuků) a 20 % proteinů, s maximálním obsahem cholesterolu 300 mg/den a 35 g/den vlákniny. Účastníci byli také povzbuzováni k pravidelné fyzické činnosti třikrát nebo čtyřikrát týdně.

Výsledky analýzy ukázaly, že zásah do životního stylu má nízkou účinnost, ale potvrdily účinek lovastatinu na snížení cholesterolu a jeho schopnost zvyšovat hodnoty CPK. Analýza potvrdila, že doplňky stravy obsahující správné dávky berberinu a silymarinu nebo berberinu a monakolinů významně zlepšily lipidový profil pacientů. Ve světle pozorovaného mírného zvýšení CPK tyto výsledky také naznačily možnou bezpečnost přídavné terapie doplňky stravy obsahujícími nízké dávky monakolinů u subjektů trpících nesnášenlivostí statinů. Tento výsledek je pravděpodobně způsoben nízkým obsahem (10 mg/dávka/den) podávaných monakolinů. Lze usuzovat, že vyšší dávky srovnatelné s dávkami skupiny léčené lovastatinem by pravděpodobně vyvolaly stejné zvýšení CPK. Zvýšení CPK vyvolané lovastatinem však nebylo klinicky významné a nevedlo k přerušení léčby. Analýza také naznačuje, že léčba BSM je lepší než léčba lovastatinem: Hodnoty TC, LDL a TAG byly přibližně o 4%, 6% a 11% nižší a zvýšení CPK se snížilo, ale nevýznamně, po samotném BSM ve srovnání s léčbou lovastatinem. Podobné výsledky byly získány pro TC, TAG a CPK, když byl BSM podáván jako přídavná terapie k ezetimibu nebo fenofibrátu. Pravděpodobně značné snížení LDL v důsledku ezetimibu nebo fenofibrátu snížilo schopnost BSM tuto hodnotu dále snižovat.

Závěrem tedy je, že BSM je potravinový doplněk potenciálně užitečný 1) jako primární intervence u osob s nízkým kardiovaskulárním rizikem s dyslipidémií; 2) jako doplňková terapie u pacientů s mírnou intolerancí na statiny; a 3) u dyslipidemických pacientů s negativním vnímáním statinů, kteří dávají přednost léčbě považované za přirozené. [34]

Další možnou strategií při intoleranci statinů je podávání ezetimibu, Ve většině případů však jeho podání nevede k dobrému lipidickému cíli a musí být přidán ke statinům, aby bylo možné dosáhnout lepších klinických výsledků. Další ze studií se zaměřila na vyhodnocení klinické účinnosti fixní kombinace berberinu se silymarinem (Berberol®) na zlepšování lipidických a glykemických profilů u

hypercholesterolemických pacientů s diabetem 2.typu, kteří netolerovali vysoké dávky statinů. Autoři studie hodnotili podání Berberolu jako přídavnou terapii k nízkým dávkám statinů a jako přídavnou léčbu terapie k ezetimibu nebo samostatně u pacientů netolerujících jakoukoli dávku statinů. [35]

Do studie bylo zařazeno celkem 45 pacientů. Lipidový profil pacientů se zlepšil ve všech skupinách, pokud jde o TC a LDL. Co se týče HDL, zlepšil se pouze u pacientů léčených ezetimibem a Berberolem. V případě TAG nedošlo k žádným změnám ani v jedné skupině. Konkrétněji, Berberol snížil TC ve skupině statinů asi o 6% po 6 měsících a o 16% po 12 měsících. Když byl Berberol přidán k ezetimibu, snížení TC činilo 13% a 20% po 6, respektive 12 měsících. V kontrolní skupině, ve které byl podáván pouze Berberol, dosáhlo snížení TC 6% a 17% po 6, respektive 12 měsících. Berberol snížil hodnotu LDL ve skupině statinů asi o 15% a 28% po 6, respektive 12 měsících léčby. Když byl k ezetimibu přidán Berberol, toto snížení se zvýšilo na přibližně 20% a po 6 měsících na 33%. V kontrolní skupině, ve které byl podáván pouze Berberol, dosáhlo snížení po 6 a 12 měsících 17% a 26%. Ve skupině Berberol + ezetimib došlo ke zvýšení HDL o necelých 10%. Glykemická kontrola, která byla při zápisu suboptimální, se zlepšila ve všech skupinách. Po celou dobu studie žádný z pacientů nevykazoval žádné zvýšení CPK nad nepřijatelnou hodnotu, žádné zvýšení hodnot transamináz nebo nástup astenie, myalgie nebo rabdomyolýzy.

Na základě této studie lze potvrdit, že použití fixní kombinace silymarinu přidané do berberinu z B. aristata a podávané jako přídavná terapie ve formě doplňku stravy v tabletách (Berberol®), je účinný při zlepšování lipidických a glykemických profilů u pacientů s cukrovkou trpících intolerancí statinů. [35]

Kombinací monakolin K, berberin a silymarin (BSM) se zabývala také studie Formisano a spol. Cílem studie bylo zhodnotit redukci LDL u 53 pacientů trpících polygenní hypercholesterolémií, charakterizovaných nízkým až středním kardiovaskulárním rizikem vypočítaným pomocí algoritmu SCORE. Účinky na lipidový profil dvouměsíční léčby byly porovnány s 10 mg atorvastatinu (ATO) podaného v odpovídající kontrolní skupině. Hladina PCSK9 byla stanovena na začátku a na konci studie ve skupině léčené BSM. BSM byl účinný jako látka snižující lipidy podobně jako ATO. Použití BSM významně modifikovalo hladinu PCSK9, což nakonec potlačilo

tvorbu pěnových buněk zprostředkovaných sérem přímo měřených na lidských makrofázích. BSM snižuje hladiny LDL s účinkem podobným tomu, co je indukováno 10 mg ATO a ex vivo zlepšuje funkční profil lipoproteinů s antiaterogenním účinkem. [36]

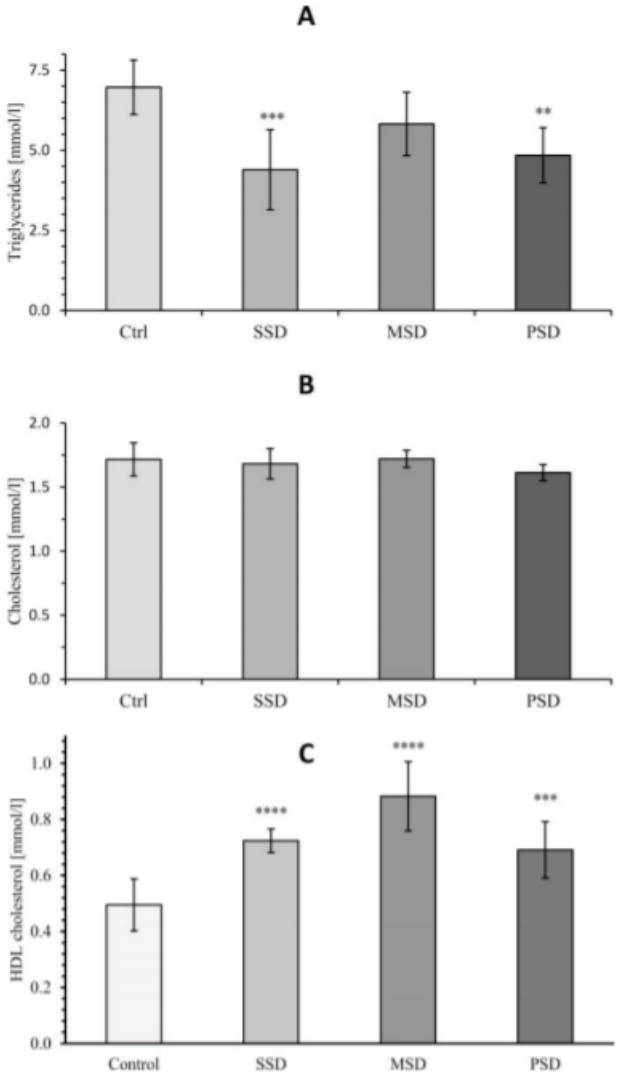
Hlavní hypolipidemické účinky má však berberin, který zvyšuje počet LDL receptorů. Dalším mechanismem pro jeho aktivitu snižující cholesterol je jeho role, kterou hraje v modulaci proteázy PCSK9, jež se zase podílí na ničení receptorů LDL. Berberin z molekulárního hlediska působí na PCSK9 opačně než na statiny. Toto chování z něj dělá terapeutickou možnost u pacientů citlivých na statiny. Silymarin zde hraje roli zejména v již zmíněném zvyšování biologické dostupnosti berberinu.

Statiny indukují prospěšné zvýšení hladin LDL receptorů a navíc upregulují PCSK9, což vede k degradaci LDL receptorů. Tento proces způsobuje negativní zpětnou vazbu, která tlumí účinky statinů na snižování lipidů. Proto vývoj inhibitorů PCSK9 může potencovat účinky statinů na snižování lipidů. Nedávná studie se zaměřila na vývoj těchto inhibitorů a mezi zkoumanými sloučeninami byl i silymarin. Vědci zjistili, že ošetření silymarinem snížilo úroveň exprese PCSK9 v buňkách HepG2 snížením aktivity promotoru PCSK9 v závislosti na dávce a čase. Silymarin byl proto navržen jako nový inhibitor PCSK9, jenž může zvýšit účinnost léčby statiny. [38]

Pozitivní efekt silymarinu na hladinu lipidů potvrdilo i několik dalších studií. [39,40,41] Výsledky ukazují, že silymarin významně snižuje hladinu triglyceridů a naopak velmi významně zvyšuje hladinu ochranného HDL. Na druhou stranu však nebyla prokázána statistická významnost pro snížení celkového cholesterolu po podávání silymarinu. [39,41]

Autoři další studie zkoumali účinky silybinu v různých lékových formách (standardizovaný silybin (SS), mikronizovaný silybin (MS) a silybin ve formě fytosomů PS)) na dyslipidémii a metabolismus glukózy u dědičně hypertriglyceridemických potkanů (HHTg). Samci HHTg potkanů byli rozděleni do čtyř skupin po sedmi zvířatech a byli krmeni experimentální stravou. Z měření vyplývá, že silybin významně zvýšil hladinu HDL a snížil triglyceridy, ale nevýznamně mění hladinu celkového cholesterolu v séru HHTg potkanů ve srovnání s kontrolními HHTg potkany. (Obr. 8) [39]

Obr. 8 : Účinek jednotlivých forem silybinu na hladiny lipidů



Zdroj: Dostupné z [39] *Účinky standardizovaného silybinu (SSD), mikronizovaného silybinu (MSD) a silybinu ve formě fytosomu (PSD) na sérovou hladinu triglyceridů (A), sérovou hladinu cholesterolu (B) a hladinu HDL cholesterolu (C). První sloupec slouží jako kontrola.*

Přesný mechanismus hypolipidemického účinku silymarinu není doposud přesně znám. Několik předchozích studií spojovalo jeho účinky s možnou aktivací PPAR. PPAR hraje klíčovou roli v metabolismu lipidů a homeostáze, protože jeho cílové geny se podílejí na katabolismu mastných kyselin oxidací (např. Acyl-CoAoxidáza nebo CYP4504A). Je to také mechanismus, na kterém jsou založeny hypolipidemické účinky fibrátů. Studie Orolin a spol. tento možný mechanismus vyvrátila. Studie se prováděla na potkanech krmených dietou s vysokým obsahem cholesterolu a silymarinem nebo

fenofibrátem (jako pozitivní kontrola jak pro expresi PPAR, tak pro stanovení lipidů). Byly stanoveny účinky silymarinu na expresi PPAR jak na mRNA (včetně vybraných cílových genů), tak na úrovni proteinu. Souběžně byly stanoveny hladiny cholesterolu a triacylglycerolů. Výsledky potvrdily hypolipidemické účinky silymarinu a prokázaly, že tyto účinky nejsou zprostředkovány pomocí PPAR kvůli nezměněné hladině mRNA cílových genů PPAR. [40]

Možné vysvětlení příznivých účinků silymarinu může zahrnovat buď jeho vliv na mechanismy regulující metabolismus lipoproteinů, nebo jednoduše snížením absorpce cholesterolu ve střevě. Nedávné výsledky o vlivu silymarinu na absorpci cholesterolu z potravy s vysokým obsahem tuku ve střevě potkana naznačují, že tento mechanismus by mohl přispět k hypolipidemickému působení silymarinu. [40]

4.6. Působení silymarinu na metabolický syndrom

Metabolický syndrom (MS) je jedním z rostoucích globálních problémů ve vyspělých zemích, který úzce souvisí s výskytem především kardiovaskulárních, ale i jiných onemocnění. Je to skupina rizikových faktorů a onemocnění, které se většinou vyskytují společně. Patří mezi ně abdominální typ obezity se zmnožením viscerálního tuku a s ním související inzulinová rezistence. K dalším hlavním rysům patří porucha glukózového metabolismu, dyslipidémie a arteriální hypertenze. [43, 44, 45, 46]

S metabolickým syndromem je spojená i nealkoholová jaterní choroba (NAFLD = nonalcoholic fatty liver disease), jež je považována za jaterní manifestaci metabolického syndromu. NAFLD má široké patologické spektrum. Od prosté jaterní steatózy, která je ve většině případů benigním a reverzibilním postižením jater. Následně se k prosté steatóze může přidat zánětlivá složka a nemoc může přes obraz NASH (nealkoholové steatohepatitidy) a jaterní fibrózy vyústit až v jaterní cirhózu, a dokonce až po hepatocelulární karcinom. Zatímco prostá steatóza není pro svého nositele nebezpečná, NASH je začátkem rozvoje cirhózy. Hlavní rizikové faktory pro NAFLD jsou stejné jako pro metabolický syndrom, tedy: obezita, inzulínová rezistence/diabetes typu 2, hypertriglyceridémie a související spouštěče dieteticko-behaviorálního chování, jako je např. příjem nápojů slazených fruktózou. [47,48,49]

Hlavní komplikací a příčinou úmrtnosti pacientů s NAFLD jsou však kardiovaskulární onemocnění. V současné době nejsou na trhu pro léčbu NAFLD schválena žádná specifická léčiva a léčba je založena pouze na optimalizaci životního stylu, zaměřeného na hubnutí, zvýšení fyzické aktivity a léčbu komorbidit. Některá nutraceutika však mohou přispět ke zlepšení infiltrace lipidů v játrech a souvisejících antropometrických, hemodynamických nebo biochemických parametrů. Proto cílem několika dalších studií bylo zhodnotit dostupné klinické údaje o vlivu některých nutraceutik na parametry související s NAFLD. [47,50]

Cicero a spol. prozkoumali databáze, aby shromáždili klinické údaje o některých nutraceutikách včetně silymarinu, využitelných pří léčbě NAFLD. Dostupné údaje ukazují schopnost silymarinu zlepšit inzulínovou rezistenci a nepřímé markery hepatosteatózy (index jaterní steatózy, produkt akumulace lipidů) již po 3 měsících léčby. V nedávné multicentrické randomizované dvojitě zaslepené studii provedené na 180 pacientech s diagnózou NAFLD/NASH po podání silybinu a vitamínu E (silybin 188 mg, fosfatidylcholin 388 mg, vitamin E 180 mg) po dobu 12 měsíců, došlo k normalizaci transaminázy, významnému snížení hladin gama-glutamyltransferázy a významnému snížení steatózy jater měřené pomocí ultrazvukového skenování. Jak se očekávalo, došlo také ke zlepšení glukózy na lačno, bazální inzulinémie a indexu rezistence na inzulín. Z kardiometabolického hlediska je obzvláště zajímavý klinický účinek silymarinu na metabolickou kontrolu diabetického pacienta. Nedávná metaanalýza pěti kontrolovaných klinických studií, do kterých bylo zařazeno 270 pacientů, ukázala, že podávání silymarinu významně zlepšilo glykemickou kontrolu nalačno (−26,86 mg/dl oproti kontrole) a glykované hodnoty hemoglobinu (−1,07 oproti kontrole), pravděpodobně pro inzulín senzibilizující účinek tohoto nutraceutika. [47]

Podobné výsledky ukazuje další randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie na 150 pacientech s NAFLD. Podávání silymarinu 140 mg/den významně zlepšilo antropometrické parametry, jako je obvod pasu a BMI. Po kontrolní léčbě nebyl statisticky významný rozdíl v alanintransamináze a aspartáttransamináze, ve skupině se silymarinem však oba jaterní enzymy byly významně sníženy. [51]

NAFLD je spojena s aterogenní dyslipidémií, zánětem a nerovnováhou renin-angiotensinového systému (RAS), a to opět vede k aterosklerotickým lézí. V další studii autoři hodnotili vliv přírodního doplňku stravy obsahujícího Curcuma longa, silymarin,

guggul, kyselinu chlorogenovou a inulin na NAFLD a aterosklerózu. Také byl zkoumán mechanismus účinku. Angiotensin II, prooxidační cytokin, syntetizovaný hlavně z jaterního prekurzoru angiotensinogenu (AGT), může mít relevantní význam v patogenezi NAFLD generováním reaktivních kyslíkových druhů a regulací produkce prozánětlivých druhů mediátorů. Pacienti s NAFLD vykazují zvýšené hladiny AT II a zvířata se steatózou jater vykazují zvýšenou hepatickou expresi receptorů AGT a AT II. RAS a jeho primární mediátor AT II mají také přímý vliv na progresi aterosklerotického procesu prostřednictvím účinků na endoteliální funkci, zánět, fibrinolytickou rovnováhu a stabilitu plátu. Pacienti s NAFLD mají změněnou průtokem zprostředkovanou vazodilataci a zvýšenou střední tloušťku intimy karotidy, což jsou dva spolehlivé markery subklinické aterosklerózy. Proto zapojení AT II do patogeneze NAFLD a do tvorby aterosklerotických plaků může poskytnout jednu z možných vazeb mezi NAFLD a zrychlenou aterogenezí. Tudíž použití blokátorů RAS se jeví jako potenciálně užitečný terapeutický přístup proti NAFLD a ateroskleróze. [50]

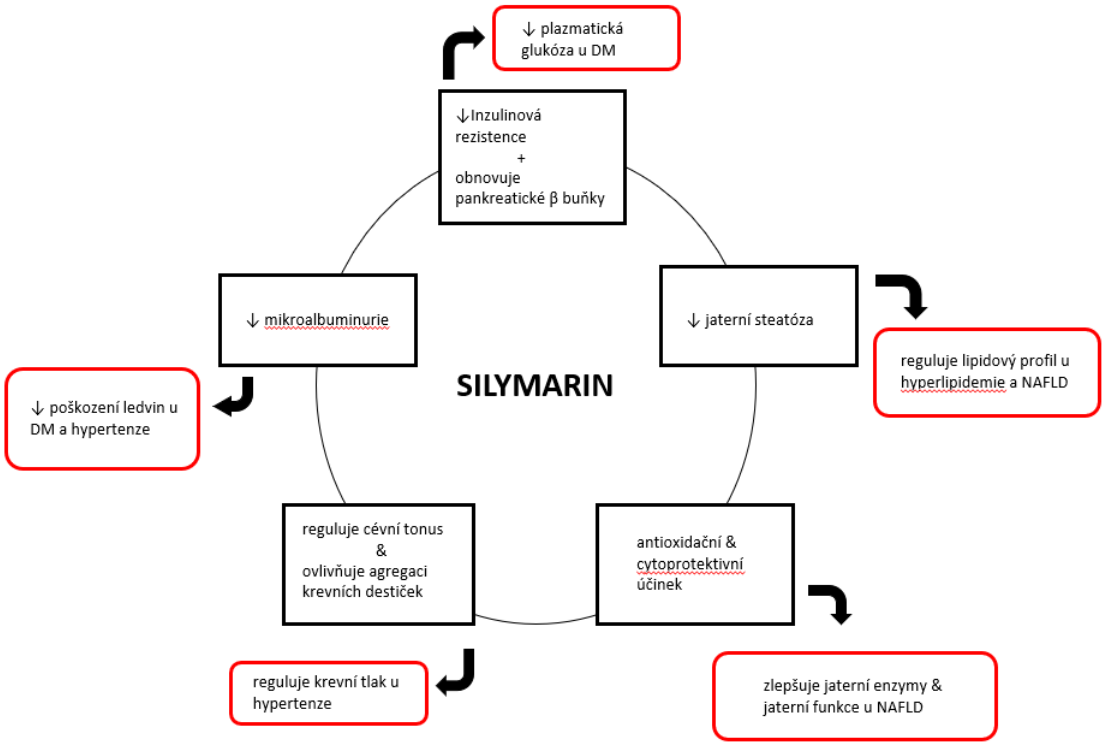
Po 16cti týdenním podávání tohoto přírodního doplňku stravy, výsledky ukázaly, že neošetřené myši měly větší nárůst hmotnosti ve srovnání se zvířaty léčenými doplňkem stravy. Kromě toho byla hmotnost jater a poměr hmotnosti jater / tělesná hmotnost vyšší než léčená skupina. U neléčených myší steatóza ovlivnila celkový vzhled jater. Naopak u myší ošetřených doplňkem stravy nebyla ovlivněna celková anatomie jater akumulací tuku a histologická analýza neodhalila přítomnost steatózy, ale pouze přítomnost malých inkluzí lipidů v hepatocytech. Plazmatické AST (aspartátaminotransferáza) a ALT (alaninaminotransferáza) byly signifikantně nižší u léčených myší než u neléčených myší. Myši ošetřené doplňkem stravy vykazovaly snížené triglyceridy, cholesterol a LDL a zvýšené hladiny HDL v plazmě ve srovnání s neléčenými zvířaty. Neošetřené myši vykazovaly aterosklerotické léze se znaky nejranějších stádií onemocnění. Léze aorty byly omezeny na kořen aorty a byly charakterizovány převážně oblastmi s nahromaděnými lipidy v tunica media a mezi buňkami hladkého svalstva. Krční tepny měly zvýšené zahuštění v tunica intima charakterizované hyperplazií a přítomností myocytů proliferujících z tunica media. Naopak u myší ošetřených doplňkem stravy ani léze v kořenech aorty, ani karotická hyperplazie v tunica intima a změny v tunica media nebyly pozorovány. U myší ošetřených tímto doplňkem stravy, exprese mRNA, AGT a receptoru pro AT1 v moči a plazmatické hladiny AT II byly významně nižší ve srovnání s neléčenými myši.

Z toho vyplývá, že doplněk stravy obsahující Curcuma longa, silymarin, guggul, kyselinu chlorogenovou a inulin účinně chrání před vývojem NAFLD a aterosklerotických lézí u obézních myší. Zabraňuje akumulaci jaterního tuku a zlepšuje hyperlipidémii. Tyto účinky jsou zprostředkovány schopností přírodního doplňku modulovat expresi různých genů zapojených do NAFLD, aby se zabránilo nerovnováze složek RAS. [50]

Vzhledem k závažným klinickým omezením metabolického syndromu byla pozornost zaměřena na stanovení některých bylinných léčivých přípravků. Bylo provedeno několik studií, zabývajících se preventivními a terapeutickými účinky silymarinu na různé složky metabolického syndromu. Cílem následující práce bylo prozkoumat všechny dostupné lidské a experimentální studie publikované od roku 2012, ve kterých byl vliv silymarinu na různé složky metabolického syndromu zkoumán.

Podle všech výzkumných studií mohou být mechanismy, kterými je možné působit na prevenci a léčbu metabolického syndromu, klasifikovány do pěti hlavních skupin. (Obr. 9) Zaprvé, v případě diabetu silymarin snižuje plazmatickou glukózu prostřednictvím snížení inzulinové rezistence a obnovením beta buněk pankreatu. Druhým mechanismem silymarinu je regulace cévního tonu a vliv na agregaci krevních destiček, to následně reguluje krevní tlak u hypertenzních stavů. Klíčový účinek u diabetu a hypertenze se týká menšího vylučování mikroalbuminů močí, čímž se snižuje poškození ledvin. Dva poslední mechanismy se zaměřují na nealkoholické mastné onemocnění jater a hyperlipidémii, pomocí které silymarin reguluje lipidový profil redukcí jaterní steatózy a zlepšuje testy jaterních funkcí svými antioxidačními a cytoprotektivními účinky. Byly navrženy další mechanismy účinku pro další složky silymarinu, jako je inhibice NF-κB a glykolytického toku v hepatocytech, potlačení oxidačního stresu snížením tvorby ROS a zlepšení glykemického řízení. [43]

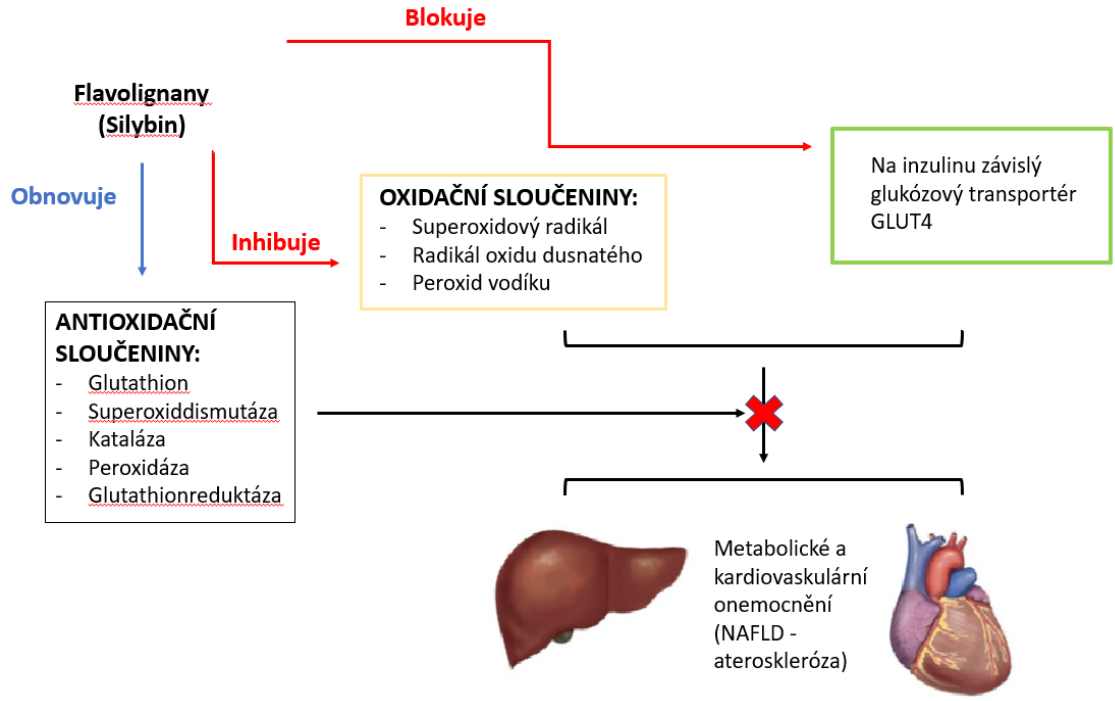
Obr. 9 : Mechanismy účinku silymarinu na jednotlivé složky metabolického syndromu



Zdroj: Dostupné z [43], upraveno v PowerPoint. *Schéma navrhovaných mechanismů účinku silymarinu na různé složky metabolického syndromu. DM - diabetes mellitus, NAFLD - nealkoholické tukové onemocnění jater.*

Na následujícím obrázku je schéma, které ukazuje hlavní účinky silybinu v rámci kardiometabolických onemocnění, které byly již v předchozích kapitolách více objasněny. (Obr. 10) [44]

Obr. 10 : Schematické znázornění působení silybinu v rámci kardiometabolických onemocněních



Zdroj: Dostupné z: [44], upraveno v PowerPoint

Antioxidační účinky, pozitivní účinky na lipidový profil a glukózový profil, antisklerotické účinky a mnoho dalších pozitivních účinků již bylo prokázáno i ve výše zmíněných studiích. [43,44,45,46,47] Díky tomuto komplexnímu spektru účinků, silymarin vykazuje slibný profil pro různé prvky metabolického syndromu. [43]

4.7. Účinky silymarinu na agregaci trombocytů

Krevní destičky, nejmenší morfotické bezjaderné prvky krve, jsou zásadní pro fyziologii hemokoagulace a mají významný vliv na udržení hemostatické rovnováhy. Podílejí se na různých patologických stavech, jako je ateroskleróza a trombóza. Kvůli velkému počtu specifických membránových receptorů jsou krevní destičky vysoce reaktivní buňky, snadno aktivovatelné mnoha fyziologickými a nefyziologickými agonisty. Krevní destičky hrají obrovskou roli v primární i sekundární hemostáze. V primární hemostáze aktivované destičky ulpívají na místě vaskulárního poškození, což

vede k agregaci destiček a tvorbě zátky, která utěsňuje porušení ve stěně cévy a zabraňuje nadměrné ztrátě krve. Dále aktivované krevní destičky exprimují na svém povrchu negativně nabité fosfolipidy, které poskytují katalytický povrch pro hlavní interakce koagulační kaskády a tvorbu sraženin v sekundární hemostáze.

Nekontrolovaná aktivace destiček je jedním z nejdůležitějších rizikových faktorů poruch kardiovaskulárního systému spojených s výskytem tromboembolických komplikací. Destičky jsou schopné tvořit patogenní, okluzivní, intrakoronární tromby, které jsou odpovědné za akutní ischemické jevy vedoucí k ischemickým akutním koronárním syndromům, mozkové mrtvici a hluboké žilní trombóze. [52,53]

Adenosindifosfát (ADP) je hlavním agonistou destiček, který je důležitý při změnách tvaru, stabilitě a růstu trombu. Aktivace destiček pomocí ADP je spojena s receptory P2Y1 a P2Y12 propojenými s G proteinem. Farmakologická blokáda receptoru P2Y12 významně snižuje riziko onemocnění periferních tepen, infarktu myokardu, ischemické mrtvice a cévní smrti. Perorální léčiva založená na inhibici receptoru P2Y12 jsou základem farmakoterapie u pacientů s akutními koronárními syndromy. Nedávné studie, zaměřené na objevení nových přírodních látek s antiagregační aktivitou, prokázaly inhibici ADP-indukované aktivace krevních destiček třemi hlavními sloučeninami skupiny flavonolignanů: silybin, silykristin a silydianin. [53]

Proto si řešitelé následující práce dali za cíl ověřit účinky silybinu, silykristinu a silydianinu na ADP-indukované fyziologické krevní destičky, a zároveň i mechanismy transdukce intracelulárního signálu závislé na P2Y12. Hodnotili účinek testovaných flavonolignanů na agregaci krevních destiček indukovanou ADP v plazmě bohaté na destičky (pomocí světelné propustnosti), adhezi na fibrinogen (pomocí statické metody) a sekreci faktoru destiček 4 (PF-4) pomocí metody ELISA. [53]

Adheze a agregace krevních destiček jsou hlavními funkčními reakcemi destiček pro aktivaci. Ve vzorcích ošetřených flavonolignany vědci pozorovali na dávce závislé snížení schopnosti krevních destiček provádět agregaci indukovanou ADP a adhezi izolovaných destiček na fibrinogen. Oba tyto procesy jsou závislé na konformačních změnách v aIIbp3 receptoru přítomném na povrchu destiček, který je ve své aktivní formě zodpovědný za vazbu destiček na fibrinogen. Aktivace aIIbp3 během konformačních změn souvisí s intracelulární signalizační cestou aktivovanou stimulací P2Y12 receptoru, což potvrzuje, že flavonolignany interagují s P2Y12 a blokují jeho aktivaci. [4,19] Po

porovnání antiadhezivních a antiagregačních účinků zkoumaných flavonolignanů byla provedena analýza účinku flavonolignanů na ADP-indukovanou sekreci PF-4 z granulí krevních destiček. PF-4 je chemokin, který se uvolňuje z alfa-granulí aktivovaných krevních destiček během jejich agregace a podporuje koagulaci krve. Tento experiment také ukázal, že flavonolignany snížily schopnost krevních destiček reagovat na ADP.

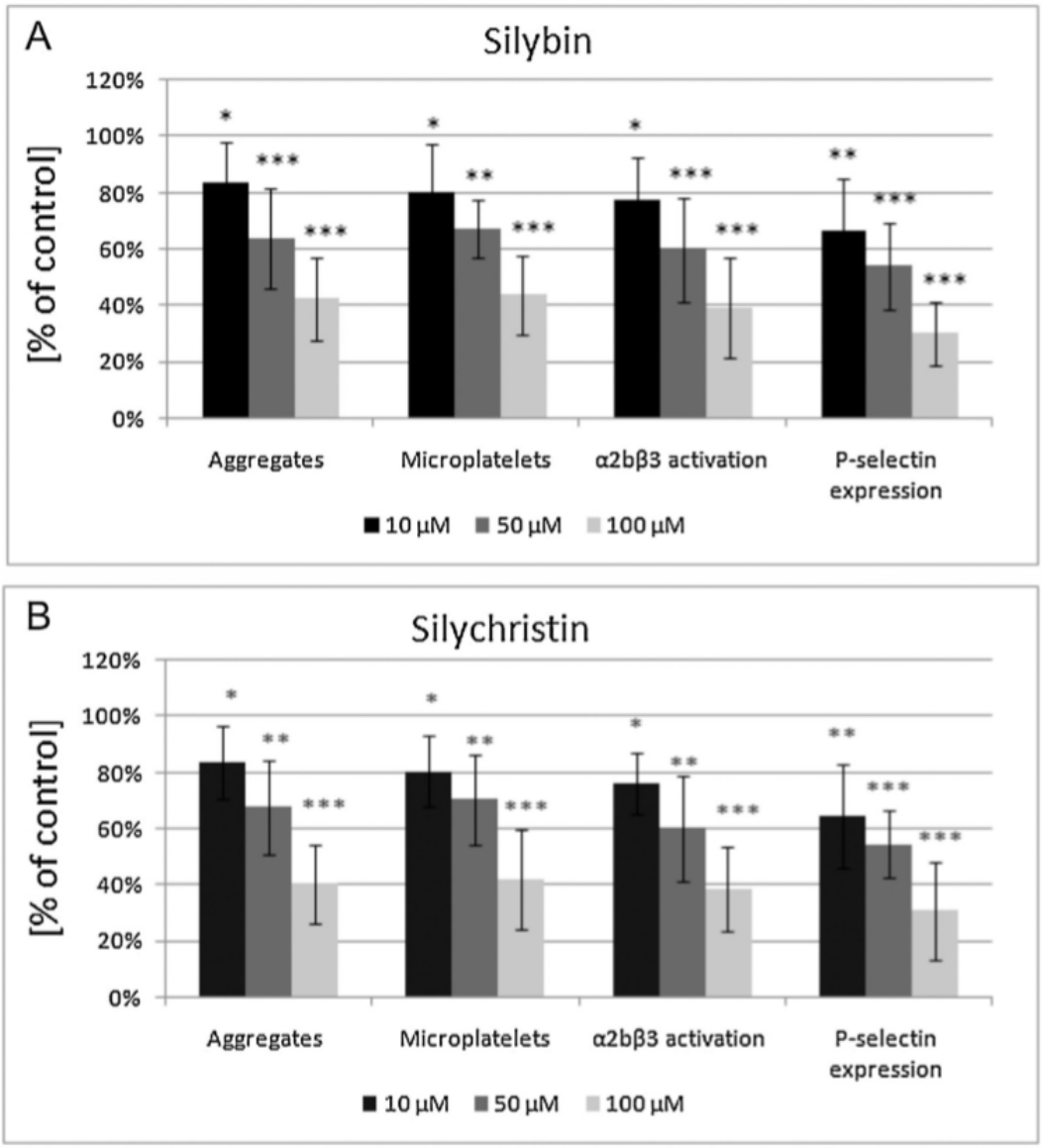
Všechny tyto analýzy ukázaly, že silykristin a silybin mají nejsilnější účinek na aktivaci krevních destiček pomocí ADP, zatímco silydianin inhibuje ADP cestu, ale v menší míře.

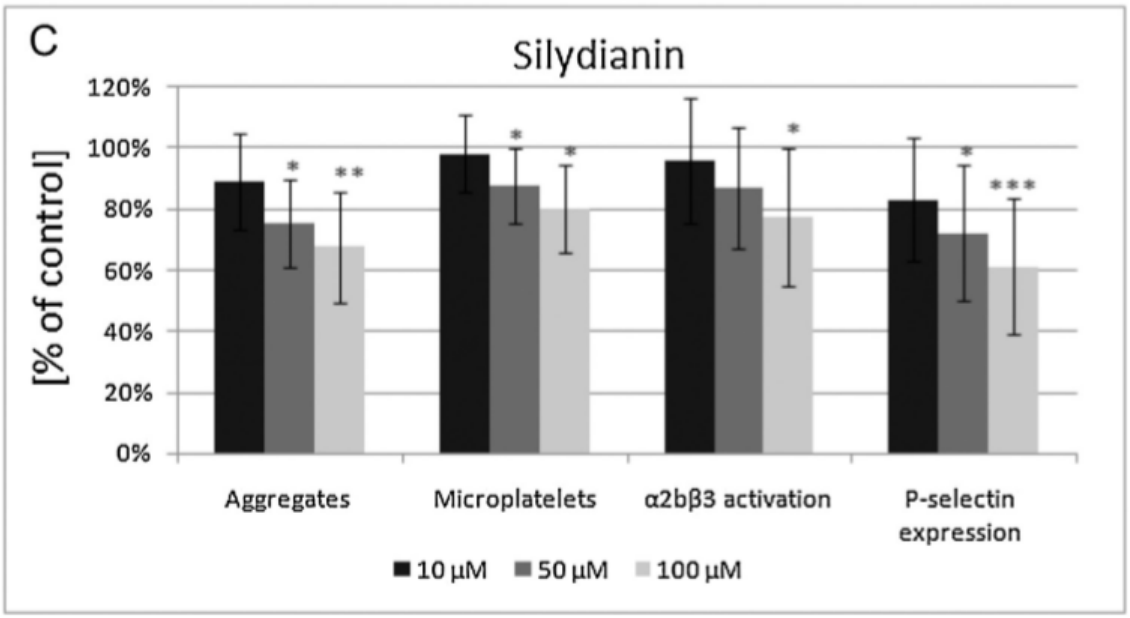
Výsledky získané v této studii jasně ukázaly, že tři hlavní flavonolignany, silybin, silykristin a silydianin, mají inhibiční vlastnosti proti receptoru P2Y12 a blokují aktivaci krevních destiček indukovanou ADP. Tento účinek by mohl vést k použití flavonolignanů jako doplňků stravy, jakož i budoucích léčivých látek při léčbě trombotických příhod, u nichž je přítomna hyperreaktivita krevních destiček. Molekulární struktury flavonolignanů lze navíc použít také jako farmakofory pro návrh a syntézu nových antagonistů P2Y12. [53]

Pracovní skupina Bijak a spol. si dala stejný cíl, tedy prozkoumat účinky tří hlavních flavonolignanů (silybin, silykristin a silydianin) na aktivaci krevních destiček indukovanou ADP pomocí analýzy průtokovou cytometrií a také stanovit mechanismus této interakce bioinformatickou metodou ukotvení ligandu.

Výsledky opět ukazují, že všechny testované flavonolignany v závislosti na dávce inhibují tvorbu agregátů krevních destiček a mikročástic a také snižují expresi P-selektinu (biomarker aktivace destiček) a aktivaci integrinu aIIbp3. (Obr.11) Ve studii použité počítačem generované modely potvrzují analýzu průtokovou cytometrií. Všechny testované flavonolignany mají také konformace, které jsou schopné vázat se na extracelulární doménu P2Y12 receptoru a pravděpodobně blokovat interakci s ADP.

Obr. 11 : Účinky flavonolignanů v jednotlivých dávkách na aktivované krevní destičky





Zdroj: Dostupné z [52] *Účinek flavonolignanů: A - silybin, B - silykristin a C - silydianin (v koncentracích: 10, 50 a 100 µM) na aktivaci krevních destiček 20 µM ADP ve vzorcích plné krve. Aktivace krevních destiček byla prezentována jako tvorba mikročástic a agregátů, jakož i exprese selektinu P a aktivní formy integrinu aIIbp3.*

Autoři také pozorovali, že aktivní metabolit klopidogrelu (hlavní aktivní látka používaná v terapii, která je také antagonistou ADP) byl umístěn ve stejné kapse P2Y12 extracelulární domény jako testované flavonolignany. A dokonce afinita klopidogrelového aktivního metabolitu B k P2Y12 byla nižší než afinita silybinu a silykristinu. Tyto výsledky opět naznačují, že flavonolignany, stejně jako thienopyridiny, přímo interagují s P2Y12 a blokují vazbu ADP na receptor a v důsledku toho inhibují ADP indukovanou aktivaci krevních destiček.[52]

Proces aktivace destiček je velmi složitý a je spojen s prvky enzymatických signálních transdukčních řetězců. Po aktivaci destiček vede signální transdukce k mobilizaci intracelulárních vápenatých iontů (Ca2 +). Vysoká intracelulární koncentrace Ca2+ má za následek aktivaci fosfolipáz, které jsou odpovědné za uvolňování produktů enzymatických hydrolýz buněčných membránových fosfolipidů. Patří mezi ně například prekurzor esenciálních bioaktivních eikosanoidů - arachidonová kyselina (AA), což je 20tiuhlíková polynenasycená mastná kyselina. AA uvolňovaná z membrán je enzymaticky oxidována a transformována cyklooxygenázou (COX) na meziprodukty, a

to: prozánětlivé prostaglandiny a protrombotický tromboxan A2 (TXA2). Jsou doprovázeny produkcí reaktivních druhů kyslíku. TXA2 je generován z prostaglandinu H2 tvořeného COX prostřednictvím tromboxan-A-syntázy. TXA2 je velmi silný aktivátor krevních destiček, který působí jako proagregátor a vasokonstrikční mediátor, což vede ke zvýšené agregaci destiček. To hraje klíčovou roli v růstu a stabilizaci koronárního trombu. TXA2 se tvoří v krevních destičkách v reakci na místní podněty a vykazuje aktivační účinek v krátké vzdálenosti od své biosyntézy. [54]

Metabolismus AA pomocí COX je hlavní cestou aktivace krevních destiček a je spojen s trombotickou aktivitou destiček a produkcí prozánětlivých mediátorů. Přidávání AA in vitro do plazmy bohaté na destičky způsobuje obrovské spotřeby kyslíku, generování TXA2 a agregaci destiček. Jednou z hlavních metod protidestičkové farmakoterapie při prevenci arteriální trombózy je inhibice aktivity COX. Proto se následující studie zaměřila na stanovení vlivu tří hlavních flavonolignanů (silybin, silykristin a silydianin) na agregaci krevních destiček indukovanou kyselinou arachidonovou, na tvorbu metabolitů dráhy COX a na aktivitu COX v krevních destičkách.

Z měření vyplývá, že testované sloučeniny snižují míru agregace destiček, snižují hladinu jak tromboxanu A2, tak i tvorbu malondialdehydu (metabolit dráhy COX) a také inhibují aktivitu COX. Nejsilnější účinek byl pozorován pro silykristin a silybin. Ve studii bylo prokázáno, že silykristin a silybin mají konformace, které interagují s aktivním místem COX jako kompetitivní inhibitory, což blokuje možnost vazby substrátu. Výsledky získané studie naznačují potenciál flavonolignanů jako nových protidestičkových a protizánětlivých činidel. [54]

Dalším fyziologickým agonistou krevních destiček je kolagen. Kolagen představuje až 40% celkového proteinu přítomného ve stěně cév a je hlavním aktivátorem reakce destiček po poškození tkáně. Podporuje jak adhezi destiček, tak úplnou aktivaci. Když je kolagen vystaven krvi, destičky rychle ulpívají na tomto místě, aktivují se a začnou tvořit agregáty. Autoři další studie se rozhodli prověřit vliv silybinu, silykristinu a silydianinu na aktivaci krevních destiček vyvolanou kolagenem, a to na adhezi, agregaci a sekreci PF-4. [55]

Aktivace krevních destiček kolagenem má za následek tvorbu agregátů krevních destiček a mikročástic, jakož i membránovou expresi selektinu CD62P a aktivaci

integrinu aIIbp3. K analýze autoři použili metodu průtokové cytometrie a zjistili, že v závislosti na dávce silykristin a silybin inhibují tvorbu agregátů krevních destiček indukovaných kolagenem a snižují expresi aktivačních markerů na jejich povrchu, jako je P-selektin (CD62P) a aktivní forma aIIbp3. Nejsilnější protidestičkové účinky byly pozorovány u silykristinu, který v nejvyšší použité koncentraci - 100 μM byl schopnen snížit agregaci krevních destiček na 64,5% kontrolní hodnoty, jakož i expresi P-selektinu (na 61,0% kontrolní hodnoty) a aktivaci integrinu aIIbp3 (na 76,4% kontrolní hodnoty). U vzorků ošetřených silydianinem nebyl pozorován žádný významný účinek. Dále byl zkoumán účinek flavonolignanů na adhezi krevních destiček na kolagenová vlákna. Měření adheze izolovaných destiček odhalilo, že silykristin a silybin mají nejzřetelnější inhibiční účinek. Ve vzorcích ošetřených silydianinem byl pozorován také statisticky významný inhibiční účinek, ale byl nižší ve srovnání s účinkem silykristinu a silybinu.

Po porovnání antiadhezivních a antiagregačních účinků zkoumaných flavonolignanů byla provedena další měření kolagenem indukované sekrece PF-4 z granulí alfa destiček. Tento experiment také ukázal, že silykristin a silybin mají nejsilnější účinek na aktivaci krevních destiček kolagenem. Ve všech testovaných koncentracích autoři pozorovali statisticky významný inhibiční účinek na uvolňování PF-4 vyvolané kolagenem. V případě silydianinu byl rovněž pozorován inhibiční účinek na sekreci PF-4 a při nejvyšší testované koncentraci (100 μM) byl tento účinek statisticky významný.

Z této a některých předchozích studií vyplývá velký potenciál silybinu a silykristinu v suplementaci zabraňující primárním a sekundárním trombotickým příhodám, při nichž je pozorována reakce nadměrných krevních destiček na fyziologické agonisty. [55]

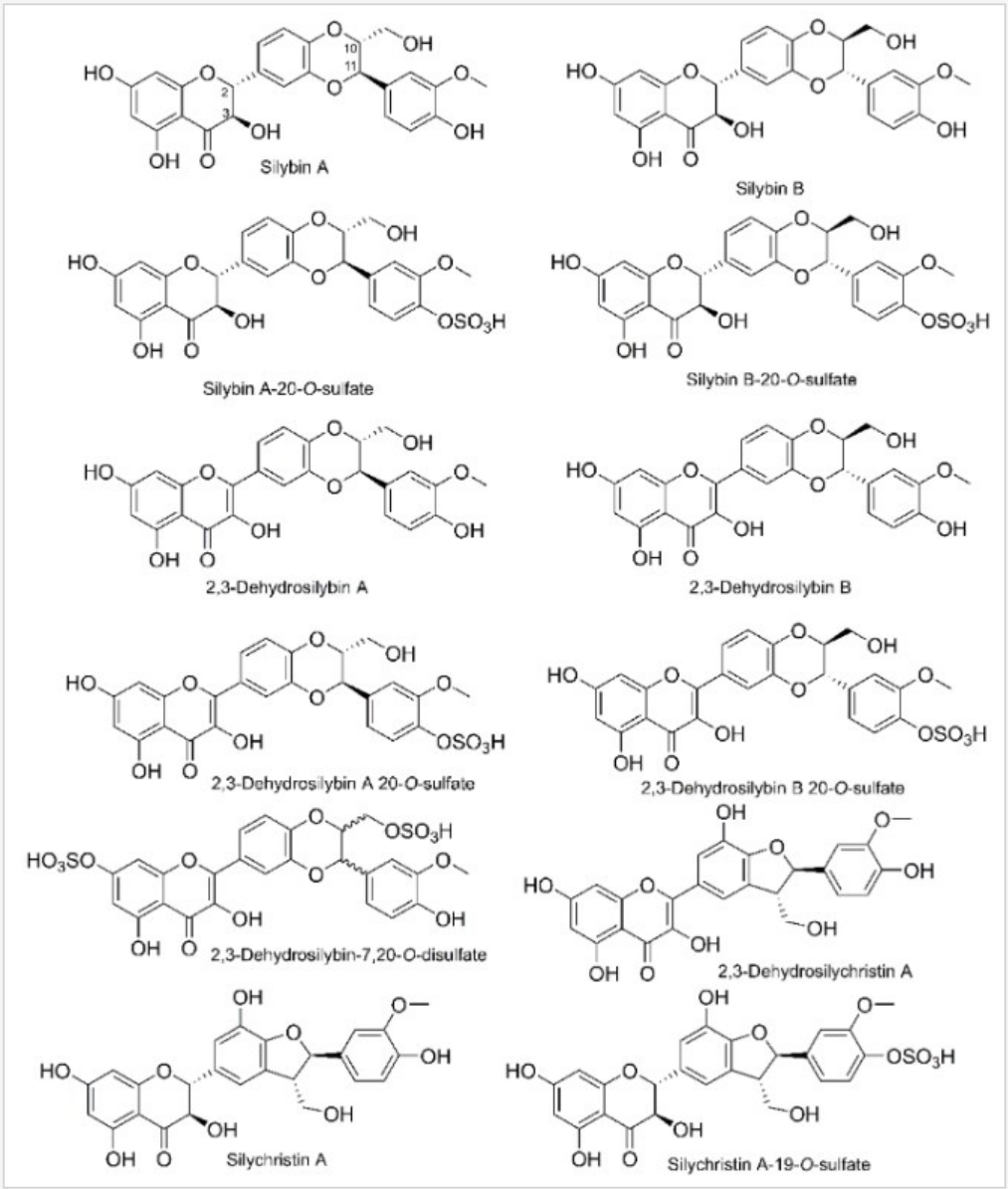
Další ze studií se zaměřila na IL-1β (interleukin-1 beta). IL-1β je nejsilnější prozánětlivý cytokin, zodpovědný za široké spektrum imunitních a zánětlivých odpovědí, indukuje aktivaci T-buněk a B-buněk a následně syntézu dalších prozánětlivých cytokinů. IL-1β se ukazuje také jako induktor tvorby agregátů krevních destiček-leukocytů, což naznačuje, že IL-1β významně ovlivňuje křížovou komunikaci mezi krevními destičkami a imunitním systémem, a to vede ke koronární trombóze. [56]

Vědci zjistili, že v závislosti na dávce silybin a silykristin inhibují tvorbu agregátů krevních destiček-leukocytů ve vzorcích plné krve indukovanou IL-1β, jakož i produkci

prozánětlivých cytokinů jako je IL-2, TNF, interferon-α a interferon-y. Kromě toho tyto dva flavonolignany zrušily expresi mRNA indukovanou IL-1β pro interferon-y a TNF. Tyto současné výsledky ukazují, že flavonolignany mohou být novými sloučeninami používanými při prevenci kardiovaskulárních chorob s dvojím účinkem jako protidestičková a protizánětlivá činidla. [56]

Účinkem silymarinu na krevní destičky se dokonce zabýval i vědecký tým naší fakulty. Vědci zkoumali silymarinové flavonolignany jako čisté diastereomery (Obr. 12) a také jejich sulfatované metabolity na potenciální vazorelaxační a protidestičkové účinky v izolované aortě potkana a v lidské krvi. Tyto sloučeniny byly vyšetřeny ex vivo na vazorelaxační vlastnosti na izolované aortě potkana a na protidestičkové účinky v lidské krvi. Kdykoli to bylo možné, byly použity izolované diastereomery k vyřešení možných rozdílů v jejich farmakologickém působení. [57]

Obr. 12 : Struktura testovaných sloučenin



Zdroj: Dostupné z [57]

Co se týče vazorelaxační aktivity, tak většina z 15 testovaných flavonolignanů, včetně opticky čistých sloučenin, racemátů a jejich metabolitů, vykazovala vazorelaxační účinek na aortu potkanů. Avšak žádná z nich neindukovala úplnou vazorelaxaci při testovaných koncentracích v rozmezí od 100 nM do 1 mM. Nejvyšší vazorelaxační aktivitu vykazoval silykristin-19-O-sulfát, silybin A, silykristin, 2,3-dehydrosilybin A a silybin, přičemž detekovatelné vazorelaxační účinky byly nízké, až stovky nM. Naproti tomu 2,3-dehydrosilybin B, silybin A 20-O-sulfát a 2,3-dehydrosilybin-7,20-O-disulfát

nebyly účinné. Vazorelaxační účinky silymarinových flavonolignanů byly jasně závislé na stereomerní konfiguraci sledovaných sloučenin. Stereomery B byly obecně méně účinné než stereomery A (např. silybin) nebo dokonce neúčinné (2,3-dehydrosilybin). Aktivita jejich ekvimolární směsi byla mezi aktivitou jednotlivých stereoizomerů. Rovněž se vyhodnotil účinek sulfatace na vazorelaxační aktivitu a výsledky ukazují, že monosulfatace na rozdíl od disulfatace aktivitu nesnížila.

Druhou zkoumanou aktivitou byl antiagregační účinek silymarinu. Z předchozích studií bylo prokázáno, že silybin a silykristin inhibují kolagenem indukovanou agregaci destiček v plazmě bohaté na krevní destičky a agregáty krevních destiček v plné krvi, snižují expresi aktivačních markerů na svém povrchu, jako je P-selektin a aktivní forma aIIbp3. Silykristin byl ve všech testech účinnější než silybin a obě látky také inhibovaly adhezi destiček na kolagenová vlákna. V této studii však vykazoval silybin mírně silnější protidestičkovou aktivitu než silykristin. Rozdíl mezi nimi však nebyl významný a obě látky byly zjevně méně aktivní než kyselina acetylsalicylová (ASA), která se používá jako standardní protidestičkový lék. Jednotlivé diastereoizomery silybinu při 240 μM inhibovaly agregaci indukovanou kolagenem způsobem srovnatelným s ASA, ale ztráta účinku při klesající koncentraci byla mnohem strmější, nevykazující žádnou aktivitu při dosažitelných plazmatických hladinách. Aktivity diastereomerů byly srovnatelné. 2,3-dehydrosilykristin, nejúčinnější látka, byl významně silnějším inhibitorem než silykristin, což ukazuje na důležitost 2,3-dvojné vazby ve flavonolignanovém skeletu pro kolagenem indukovanou agregaci. Stejný jev však nebyl pozorován u 2,3-dehydrosilybinu a silybinu, což naznačuje složitější vztah mezi strukturou a aktivitou. Sulfatace významně nesnížila účinek s výjimkou silybinu A a 2,3-dehydrosilybinu, jehož konjugace vedla k významnému poklesu aktivity. Všechny ostatní sulfáty a 2,3-dehydrosilybin-7,20-O-disulfát inhibovaly agregaci destiček indukovanou kolagenem ve stejném rozsahu jako jejich původní sloučeniny.

Silymarin a jeho izolované flavonolignany dříve snižovaly agregaci destiček iniciovanou jinými induktory, jako je kyselina arachidonová nebo ADP. Tyto výsledky nejsou v souladu s testy této studie na celou krev, kde silykristin nevykazoval významnou antiagregační aktivitu ve srovnání s kontrolou (DMSO) ani při nejvyšší testované koncentraci (240 μM) a silybin vykazoval slabou inhibiční aktivitu při nejvyšší koncentraci. Aktivita silybinu B jasně překročila účinek silybinu A, což naznačuje, že jeho stereochemie je pro antiagregační aktivitu na této úrovni zásadní. Je to tedy opačný

trend než v případě vazorelaxačního účinku (silybin B byl významně méně aktivní než silybin A). Stejná tendence je také patrná u dalších párů stereoizomerů testovaných v této studii. Naproti tomu přítomnost nebo nepřítomnost 2,3-dvojné vazby nehraje žádnou roli při agregaci destiček vyvolané kyselinou arachidonovou, protože racemický silybin a 2,3-dehydrosilybin nevykazovaly významně odlišný účinek. Podobně nebyl nalezen žádný rozdíl mezi jednotlivými diastereomery a jejich 2,3-dehydroderiváty v jejich účincích na agregaci indukovanou kyselinou arachidonovou. Většina sulfatovaných konjugátů byla stejně aktivní jako jejich původní sloučeniny, což je základní nález pro nejúčinnější látku silybin B a její sulfát, protože silybin B je konjugován rychleji a podstatně větší měrou než silybin A. Jediný negativní účinek sulfatace byl zaznamenán pro 2,3-dehydrosilybin A a B, kde to vedlo k téměř úplné ztrátě aktivity.

Výsledky této studie naznačují, že kardiovaskulární účinky silymarinu jsou spojeny spíše s jeho vazorelaxační aktivitou než s antiagregačními účinky. Silybin A, silykristin (90% isomer A) a 2,3-dehydrosilybin A vykazovaly vazorelaxační účinky ex vivo na izolovanou aortu potkana při koncentracích dosažitelných v plazmě. Zatímco silybin B, jeho sulfát a 2,3-dehydrosilybin B byly jedinými flavonolignany, které vykazovaly protidestičkové aktivity, ale tyto účinky jsou považovány za slabé. [57]

4.8. Kardioprotektivní účinky silymarinu

Srdeční dysfunkce patří celosvětově mezi hlavní příčiny morbidity a také mortality. Oxidační stres je považován za jeden z molekulárních mechanismů podílejících se na srdeční toxicitě vyvolané léky. Nedávno bylo v různých studiích použito několik přírodních produktů včetně silymarinu, s cílem chránit progresi srdečních poruch vyvolaných oxidačním stresem. Z dostupných studií vyplývá, že silymarin má široké spektrum srdeční ochranné aktivity proti toxicitě vyvolané některými chemikáliemi včetně kovů, znečišťujících látek v životním prostředí, oxidačních činidel a protinádorových léčiv. [58, 59]

Depozice železa v srdci je hlavní příčinou úmrtí u pacientů se srpkovitou anémií a thalassemií, pravděpodobně v důsledku buněčné apoptózy. Polyfenolická struktura silymarinu umožňuje jak vychytávání volných radikálů, tak chelataci přechodných kovů, včetně železa. Nicméně silymarin je známý jako antioxidant, ale může paradoxně ovlivňovat buňky indukcí intracelulárního oxidačního stresu. Silymarin redukuje Fe (III) na Fe (II) před vytvořením komplexů železa pomocí Fentontypových reakcí s produkcí hydroxylových radikálů nebo Haber-Weissových reakcí se superoxidovými anionty. Může vykazovat prooxidační účinky tím, že vytváří kyslíkové radikály v přítomnosti kovových iontů a indukuje peroxidaci lipidů, modifikaci proteinů a poškození DNA. Léčba přetížení železem silymarinem je tedy velké dilema, pokud jde o řešení problému. [58]

Dalším z prvků je anorganický arsen, přirozeně se vyskytující toxický polokov. Chronická expozice arsenu indukuje oxidační stres zprostředkovaný ROS a hraje důležitou roli v patogenezi srdeční toxicity, která je spojena s poškozením myokardu, srdečními arytmiemi a kardiomyopatií. Arsenem indukovaná tvorba ROS způsobuje peroxidaci lipidů, inaktivaci enzymů a poškození DNA v srdeční tkáni. Intoxikace výrazně zvýšila sérové srdeční markery, jako je kreatinkináza-MB, laktátdehydrogenáza, aspartáttransamináza, alanintransamináza a alkalická fosfatáza. Dále byly zvýšené markery oxidačního stresu v srdci, celkový cholesterol v plazmě, triglyceridy, fosfolipidy, volné mastné kyseliny, LDL, VLDL i srdeční lipidový profil (TC, TG a volné mastné kyseliny). Signifikantně byla snížená hladina HDL v séru, srdeční fosfolipidy, mitochondriální enzymy, hladiny enzymatických antioxidantů, neenzymatických antioxidantů a membránově vázaných ATPáz v srdci. Předběžné podání silybinu pozoruhodně obnovilo všechny tyto změněné parametry téměř na normální úroveň u As-

indukovaných kardiotoxických potkanů. Z toho vyplývá, že silybin má potenciál redukovat kardiotoxicitu a dyslipidémii vyvolanou arsenem u potkanů. [58,59]

Akrolein je všudypřítomná látka znečišťující životní prostředí. Používá se jako meziprodukt pro výrobu některých organických materiálů. Bylo prokázáno, že akrolein je toxický pro různé tkáně včetně srdce prostřednictvím produkce reaktivních druhů kyslíku. V srdeční tkáni myší akrolein zvýšil hladiny malondialdehydu a snížil obsah glutathionu, superoxiddismutázy a katalázy. U zvířat léčených akroleinem byly zvýšeny sérové srdeční markery, jako je troponin I a kreatinkináza-MB. Akrolein také vyvolal abnormality v normální srdeční struktuře myší a indukoval apoptózu v srdci myší. Preventivní podání silymarinu zlepšilo všechny tyto parametry, a zároveň inhibovalo apoptózu vyvolanou akroleinem. Silymarin tedy lze považovat za silné ochranné činidlo proti některým látkám znečišťujícím životní prostředí, jako je akrolein, prostřednictvím zmírnění oxidačního stresu a antiapoptotických vlastností. [58]

Dalšími látkami jsou fluoridy, které se přirozeně vyskytují ve vodních zdrojích a v pitné vodě. Fluoridy mohou mít na lidský organismus užitečné i škodlivé účinky. Nadměrné hromadění fluoridů v měkkých tkáních způsobuje oxidační stres inhibicí různých enzymatických systémů a zvýšenou tvorbou volných radikálů. Fluoridem indukovaný oxidační stres hraje důležitou roli v progresi řady srdečních poruch, jako je srdeční selhání a ischémie. Dochází k poškození myokardu a následně k jeho dysfunkci. Studie, která zkoumala oxidační poškození indukované fluoridy v srdečních tkáních a zmírňující účinky silymarinu, zjistila, že podávání silymarinu před spotřebou fluoridu sodného zabraňuje oxidačnímu stresu v srdečních tkáních potkanů, a to v důsledku antioxidačního působení silymarinu. [58,59]

4.8.1. Vliv silymarinu na nežádoucí účinky protinádorových léčiv

Kardiotoxicita je jedním z nejdůležitějších nežádoucích účinků při léčbě rakoviny a je zodpovědná za znatelnou morbiditu a úmrtnost. Nejčastějším a závažnějším nepříznivým účinkem chemoterapeutických látek na kardiovaskulární systém je srdeční selhání s komorovou systolickou dysfunkcí. Mezi další toxické účinky patří hypertenze, tromboembolická nemoc, arytmie a ischemie myokardu. Charakteristickými příklady kardiotoxicity protinádorové léčby jsou kardiomyopatie související s antracyklinem, která způsobuje trvalé poškození na buněčné úrovni. Kardiotoxicita omezuje klinické použití těchto léků. Proto preventivní podávání silymarinu by mohlo potenciálně zlepšit kardiotoxicitu vyvolanou některými cytostatiky. [58, 60]

Jedním z nich je cyklofosfamid. Kardiotoxické účinky cyklofosfamidu spočívají v akutním poškození srdce, které je morfologicky charakterizováno nekrózou, krvácením a pozdějším vývojem fibrózy. Studie Avci a spol. zkoumala kardioprotektivní účinky silymarinu a kurkuminu proti toxickým účinkům vysokých dávek cyklofosfamidu na srdce potkanů. [60]

Výsledky ukázaly, že po podání cyklofosfamidu došlo ke zvýšení srdeční hladiny MDA a DNA fragmentace a významnému snížení hladin SOD. Cyklofosfamid způsobil závažné poškození histopatologického stavu srdeční tkáně včetně intersticiálního edému, krvácení, degenerace a nekrózy svalových fibril. Dále bylo detekováno významné zvýšení procenta TUNEL-pozitivních buněk a exprese yH2AX proteinu, zvýšení procenta buněk pozitivních na kaspázu 3 a snížení procenta buněk pozitivních na Bcl-2. U potkanů, kterým byl podáván silymarin souběžně s cyklofosfamidem, bylo zjištěno, že biochemické parametry, histopatologické a imunohistochemické výsledky jsou výrazně nižší než ve skupině pouze s cyklofosfamidem. Z toho vyplývá, že silymarin má díky svým přirozeným antioxidačním vlastnostem ochranné účinky proti kardiotoxicitě vyvolané cyklofosfamidem a oxidačnímu stresu u potkanů. [60]

Další léčivem, jehož terapie je obvykle spojena s výraznou kardiotoxicitou, je cisplatina. Kardiotoxicita se projevuje jako arytmie, kardiomyopatie, někdy dokonce až ve formě městnavého srdečního selhání. Hlavní roli hraje opět oxidační stres a apoptóza. Silymarin díky svým antioxidačním vlastnostem a již známým mechanismům, přes aktivaci antioxidačních enzymů apod. snížil srdeční toxicitu, vyvolanou cisplatinou. [58]

Nejvíce prostudovaným protinádorovým léčivem v této problematice je doxorubicin. Jedná se o antracyklinové širokospektré chemoterapeutické činidlo, jehož klinické použití je spojeno s vážnými cytotoxickými vedlejšími účinky, včetně kardiotoxicity. Předpokládá se, že oxidační stres a tvorba volných radikálů hrají zásadní roli v mechanismu doxorubicinové toxicity. Semichinonová forma doxorubicinu je toxický metabolit s krátkou dobou života, který interaguje s molekulárním kyslíkem a iniciuje kaskádu reakcí, čímž vytváří reaktivní druhy kyslíku. Srdce je pak náchylné k poškození volnými radikály, protože má nižší úroveň protektivních enzymů, jako je superoxiddismutáza a další enzymy, než jiné tkáně. [58, 61, 62, 63]

Ve studii El-Shitany et al., která zkoumala účinek silymarinu na doxorubicinem indukovanou kardiotoxicitu u potkanů, bylo zjištěno, že jedna dávka doxorubicinu (10mg/kg) způsobila výraznou akutní kardiotoxicitu 72 hodin po injekci. Kardiotoxicita indukovaná doxorubicinem se projevila zvýšenou plazmatickou aktivitou CPK a LDH. Zároveň došlo k závažným histopatologickým poškozením srdce, včetně sporadických časných nekrotických vláken, cévního přetížení a intravaskulární hemolýzy. Výsledky ukázaly, že tyto změny byly spojeny s hyperlipidémií, významným zvýšením hladiny MDA v srdci a snížením obsahu glutathionu. Předběžné ošetření silymarinem (50mg/kg, po dobu 30 dní, 7 dní před injekcí doxorubicinu) významně zlepšilo všechny toxické účinky doxorubicinu v srdeční tkáni potkanů kromě hyperlipidémie. [58, 61]

Další studie odhalila, že podávání stejné dávky doxorubicinu významně zvýšilo hladinu radikálu NO v séru po 7 a 21 dnech. Předběžné ošetření silymarinem (100 mg/kg, 5 dní před injekcí doxorubicinu) snížilo hladinu radikálu NO. Při světelném mikroskopickém vyšetření byla u potkanů ošetřených doxorubicinem pozorována tvorba cytoplazmatických vakuol a intersticiální edém. Pomocí elektronové mikroskopie byla pozorována myofibrilární disorganizace a dilatace sarkoplazmatického retikula. Tato histopatologická poškození byla obnovena u potkanů ošetřených silymarinem. [58, 62]

Závěrem lze říct, že dle výsledků studií, silymarin významně chrání před doxorubicinem indukovanou kardiotoxicitou a je možné ho podávat jako podpůrný léčebný prostředek během protirakovinné léčby. K určení klinického hodnocení jsou však zapotřebí další klinické studie. [58, 61, 62]

4.8.2. Vliv silymarinu na nežádoucí účinky jiných léčiv

Studie ukazují, že oxidační stres se podílí na hypertrofické odpovědi. Zvýšení srdeční hmoty (srdeční hypertrofie) je považováno za důležitou adaptivní reakci pro udržení nebo zvýšení srdeční hemodynamické produkce v podmínkách, jako je arteriální hypertenze a familiární hypertrofická kardiomyopatie, což je požadavek na zvýšené pracovní zatížení. Kromě mechanického stresu zahrnují některé stimulační mechanismy spojené se srdeční hypertrofií stimulaci prostřednictvím např. α1-adrenergních agonistů, endotelinu-1 a angiotensinu II. Fenylefrin je α1-adrenergní léčivo, které může vyvolat srdeční hypertrofii jako jeho nežádoucí účinek. Je známo, že aktivace několika signálních drah, včetně ERK/MAPK a PI3K/Akt, se podílí na regulaci a progresi srdeční hypertrofie. [58, 64]

Pracovní skupina Anestopoulos a spol. se zaměřila na vyhodnocení účinku silybinu jednak v prevenci poškozených buněk vyvolaných oxidačním stresem, tak i jeho účinkem na hypertrofickou reakci vyvolanou fenylefrinem. Studie byla provedena na srdečních buňkách H9c2 embryonálních potkanů. [64]

Výsledky ukazují, že silybin je schopen inhibovat rozvoj srdeční hypertrofie v těchto H9c2 buňkách, pocházejících ze srdce embrya potkana. Fenylefrin fosforyloval ERK1/ 2 po 15 a 30 minutách inkubační doby, zatímco silybinová ko-inkubace inhibovala ERK1/ 2 fosforylaci. Tato studie také odhalila, že ačkoli bylo pozorováno mírné zvýšení Akt fosforylace v buňkách H9c2 po ošetření fenylefrinem, inkubace se silybinem zcela zvrátila tuto aktivaci Akt fenylefrinem v buňkách H9c2. Fosforylace Akt má proto malou roli v srdeční hypertrofii vyvolané fenylefrinem. To naznačuje, že silybin by mohl chránit srdce před hypertrofií indukovanou fenylefrinem. Z testů na viabilitu buněk bylo také prokázáno, že předběžné ošetření silybinem významně zmírnilo apoptózu v buňkách H9c2 indukovanou oxidačním stresem. [58, 64]

Dalším léčivem je beta-adrenergní agonista - isoproterenol. Z dostupných studií vyplývá, že beta-adrenergní agonisté mohou indukovat apoptózu v kultivovaných novorozeneckých srdečních myocytech, poškodit tak srdeční myokard a vést k srdečnímu selhání. Několik studií ukázalo, že silymarin může chránit kardiomyocyty před isoproterenolem indukovanou cytotoxicitou. [58, 65, 66]

Autoři studie Zhou a spol. hodnotili protektivní účinek silybinu proti poškození vyvolanému isoproterenolem v kultivovaných novorozeneckých srdečních myocytech.

Pro měření stupně poškození srdečních myocytů byla vybrána životaschopnost, aktivace laktátdehydrogenázy a obsah malondialdehydu. Měření ukazují, že silybin zabránil isoproterenolem indukovanému oxidativnímu stresu a apoptóze v myocytech potkana. Silybin byl přidán 1 hodinu před 10 μM isoproterenolu. Výsledky ukázaly, že u srdečních myocytů potkana ošetřených isoproterenolem po dobu 48 hodin byly pozorovány významné morfologické změny. Účinky poškození však nebyly pozorovány v buňkách kontrolní skupiny ani skupiny ošetřené silybinem (0,5 mM). Silybin navíc významně snížil uvolňování LDH a produkci MDA. Silybin zvýšil aktivitu superoxiddismutázy, snížil hladinu Ca2+ a zvýšil potenciál mitochondriální membrány. Uvolňování proapoptotického cytochromu c z mitochondrie bylo sníženo silybinem. Silybin zvýšil expresi antiapoptotického proteinu Bcl-2 a zvýšení regulace SIRT1 inhibovalo translokaci Bax z cytoplazmy na mitochondrie, což způsobovalo mitochondriální dysfunkci a poškození buněk. Tyto výsledky ukazují, že silybin chrání před poškozením srdečních myocytů indukovaným isoproterenolem obnovením mitochondriální funkce a regulací exprese členů rodiny SIRT1 a Bcl-2. [58, 65]

V další studii autoři zkoumali antiapoptotický účinek silybinu proti isoproterenolem indukované apoptóze a poškození DNA v srdečních myocytech potkanů. Poškození DNA, detekované testem TUNEL, bylo po podání silybinu sníženo. Silybin také down-reguloval fosforylaci p53 a zvýšil expresi prokaspázy 3. Dále silybin inhiboval štěpení inhibitoru kaspázou aktivované DNázy a poly- (ADP-ribózy) polymerázy (PARP), které vedou k přežití buněk. Závěrem lze říct, že podle této studie se kaspázová cesta a exprese p53 podílejí na ochranném účinku silybinu před poškozením DNA vyvolaným isoproterenolem u srdečních myocytů potkanů. [58, 66]

Z výše dostupných studií vyplývá, že silybin může chránit potkaní kardiomyocyty proti isoproterenolem indukované apoptóze, prostřednictvím několika mechanismů včetně snížení uvolňování cytochromu c z mitochondrií, zvýšení hladiny proteinu Bcl-2, inhibice translokace Bax z cytoplazmy na mitochondrie a upregulace SIRT1. [58, 65, 66]

5. DISKUZE

Farmakoterapie mnoha onemocnění není zatím uspokojivě zvládnuta. V posledních desetiletích množství nových léčiv zavedených do klinické praxe spíše klesá, hlavními příčinami jsou nízká účinnost a nepřijatelné nežádoucí účinky. Přírodní látky představují jeden z nejdůležitějších zdrojů potenciálních léčiv, ať už jako alternativa k stávajícím lékům nebo jako doplňující či podpůrná léčba. Silymarin je přírodní komplex tří hlavních účinných látek nacházející se v rostlině Ostropestřec mariánský. V terapii má roli od pradávna, jako léčivá rostlina je zmiňován již od antiky. Silymarin se nejčastěji využívá jako hepatoprotektivum v léčbě nejrůznějších jaterních poruch a tyto účinky jsou také zatím nejvíc prozkoumané. Silymarin má i další příznivé účinky, zatím méně známé, a je proto možné, že se v budoucnu uplatní i v dalších indikacích. Některé z nich byly obsahem této diplomové práce.

Kardiovaskulární onemocnění patří celosvětově mezi hlavní příčiny morbidity a mortality a postihují jak vyspělé, tak rozvojové země. Kromě toho představují i velkou ekonomickou zátěž. Obzvláště u některých kardiovaskulárních chorob stále chybí optimální farmakologická léčba. Příkladem může být léčba dyslipidémie, kdy sice máme dostupné statiny jako velmi účinné látky ke snížení endogenního cholesterolu, na druhou stranu však zejména vyšší dávky těchto léčiv často vedou k nežádoucím účinkům, které brání dosažení optimálního lipidového profilu. Alternativou u pacientů netolerujících statiny je ezetimib, ale mnohdy ani ten nevede k uspokojivému výsledku. Stále se proto hledají nové možnosti terapie. Vzhledem k složitosti patologických a rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění je hledání nových účinných látek obtížné. Jak již bylo řečeno, důležitým zdrojem mohou být právě látky přírodního původu. Jejich slibný účinek na kardiovaskulární onemocnění dokumentují tisíce publikací z několika posledních desetiletích. Je třeba ale říci, že dobré výsledky z primárního výzkumu ještě nezaručují zisk nového léčivého přípravku a mnoho „slibných“ látek ztroskotá již v předklinických zkouškách.

Cílem této práce bylo zmapovat kardiovaskulární účinky silymarinu. Ukázalo se, že jeho působení je multifaktoriální a dokáže zasahovat na mnoha úrovních. Silymarin ovlivňuje různé děje, které se podílejí na rozvoji endotelové dysfunkce. Má především pozitivní účinky přímo na cévní endotel a na vaskulární rigiditu. Jedna ze studií naznačila

možný mechanismus přes dráhu NO a vyvrátila, že by silymarin měl vliv na prostaglandiny (modulace COX). Kromě toho zlepšuje enzymovou i neenzymovou antioxidační aktivitu a chrání tak buňky před oxidačním stresem. Rovněž snad zlepšuje činnost trombocytů. Tyto účinky v důsledku působí proti ateroskleróze. Proti ateroskleróze působí i to, že silymarin příznivě ovlivňuje lipidový profil. Za hypolipidemické účinky jsou částečně zodpovědné změny v expresi cytochromů P450 (např. CYP7A1 a CYP4A) a transportérů ABC (ABCA1, ABCG5, ABCG8), které se podílejí na metabolismu a vylučování cholesterolu. Částečně také působí prostřednictvím snížení absorpce cholesterolu ve střevě. Silymarin tak výrazně snižuje hladinu triacylglycerolů a naopak zvyšuje hladinu protektivního HDL, nedokáže ale statisticky významně snížit celkový cholesterol. Výše zmíněné antioxidační vlastnosti se uplatní i zde, kdy je inhibována oxidace LDL. V návaznosti na silný antioxidační účinek některé práce *in vivo* i *in vitro* naznačovaly možné snižování krevního tlaku, ale překvapivě tento účinek nepotvrdila žádná z klinických studií.

Silymarin působí také antidiabeticky a tedy v rámci metabolickému syndromu. Metabolický syndrom přitom úzce souvisí s kardiovaskulárními onemocněními. Základem tohoto účinku je zřejmě snížení inzulinové rezistence, zlepšení funkce beta buněk pankreatu a následný pokles glykemie. Kromě toho silymarin zlepšuje nealkoholickou steatohepatitidu a již zmíněnou hyperlipidémii. Dále se i zde podílejí antioxidační účinky a také regulace tonu cév a agregace krevních destiček. Nekontrolovaná aktivace krevních destiček patří k hlavním rizikovým faktorům poruch kardiovaskulárního systému. Účinky silymarinu jsou zatím sporné. Tři hlavní flavonolignany, silydianin a zejména silybin a silykristin, prostřednictví receptoru P2Y12 inhibovaly aktivaci krevních destiček indukovanou ADP, cestou COX a snad i agregaci vyvolanou kolagenem. Jiná studie provedená přímo vědeckým týmem naší fakulty ale tyto účinky nepotvrdila a naznačila, že působení silymarinu je spojeno spíše s jeho vazorelaxační aktivitou.

V poslední části práce jsem se zabývala kardioprotektivními účinky silymarinu vůči toxicitě vyvolané některými chemikáliemi včetně kovů, znečišťujících látek v životním prostředí, oxidačních činidel a protinádorových léčiv (cisplatina, cyklofosfamid, doxorubicin). Protektivní účinky zřejmě spočívají v silné antioxidační aktivitě silymarinu.

V rámci diskuze bych ráda zmínila jeden velký problém spojený s podáváním silymarinu. Tím je jeho velmi nízká biologická dostupnost po perorálním podání, daná minimální rozpustností ve vodě. Tento fakt silně limituje možné klinické uplatnění. Řešením by snad mohla být příprava lékových přípravků pomocí nanotechnologií. To zahrnuje nanokrystaly a nanosuspenze, inkluzní komplexy a fytosomy, mikro- a nanoemulze, liposomy, pevné lipidové nanočástice, nanostrukturované lipidové nosiče, inkluzi silymarinu do polymerních matric, dendrimery a polymery nanočástic a konečně i využití anorganických nanomateriálů. K hlavním problémům patří složitost přípravy a nedostatečná reprodukovatelnost, velmi nízká kapacita pro účinnou látku a nestabilita při skladování. To vše zatím brání převedení na průmyslovou výrobu a širšímu využití. [68]

Silymarin je směs látek přírodního původu se zajímavým terapeutickým potenciálem. I když se závěry dostupných studií ne vždy shodují, většina potvrzuje jeho pozitivní vliv na kardiovaskulární systém. Jsou zapotřebí další studie, které by umožnily jednak potvrzení těchto účinků, tak i upřesnily příslušné mechanismy. Nezbytnou součástí výzkumu bude i hledání vhodné lékové formy, která zajistí potřebnou biologickou dostupnost a umožní případné širší použití.

6. ZÁVĚR

Silymarin je směsí látek přírodního původu se zajímavým terapeutickým potenciálem. I když se závěry dostupných studií ne vždy shodují, většina potvrzuje jeho pozitivní vliv na kardiovaskulární systém. Působení je multifaktoriální a zejména se na něm podílejí protektivní účinky na cévní endotel, antioxidační účinky, příznivý vliv na krevní lipidy, regulace krevní agregace a antidiabetické účinky. Z toho vyplývá možné použití silymarinu při terapii aterosklerózy, dislipidémií či obecně v rámci léčby metabolického syndromu. Jsou zapotřebí další studie, které by umožnily jednak potvrzení těchto účinků, tak i upřesnily příslušné mechanismy. Rovněž dosud není jasné dávkování ani případné interakce s dalšími léčivy a minimum informací je o vlivu dalších komorbidit. Nezbytnou součástí výzkumu bude i hledání vhodných lékových forem, které zajistí potřebnou biologickou dostupnost a umožní případné širší použití.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] Pantůček J. *Ostropestřec mariánský (Silybum Marianum L.)*. *In: Topvet.(Silybum Marianum L.)*. 2009. Dostupné na URL: https://www.topvet.cz/herbar/ostropestrec-mariansky. Přístup 5.11.2019

[2] Bühring U. Léčivé rostliny: obsahové látky, zpracování, základní recepty. Praha: Knižní klub, 2010:222-224.

[3] Univerzita Palackého v Olomouci. V Olomouci vznikly nové odrůdy ostropestřce. In: Sciencemag. 2017. Dostupné z: https://sciencemag.cz/v-olomouci-vznikly-nove-odrudy-ostropestrce/. Přístup 26.10.2019

[4] Bodlák J. a Zentrich J.A. Léčivá síla bodláků. Olomouc: Fontána, 1995:74.

[5] Castleman M. Velká kniha léčivých rostlin: klasický průvodce nejlepšími přírodními léčivy představující ty nejlepší - časem i vědou prověřené - léčivé rostliny. Praha: Columbus, 2004:367.

[6] Rystonová I. Průvodce lidovými názvy rostlin i jiných léčivých přírodnin a jejich produktů. Praha: Academia, 2007:380.

[7] Farmer-Knowles H. Léčivé rostliny od A do Z: nejnovější průvodce světem bylin, stromů a květin: [podrobný přehled květin, stromů a plodů s uzdravovací silou]. Praha: Metafora, 2011:90-91.

[8] Gato. *Léčivé rostliny v praktickém bylinkářství, kosmetice a kuchyni*. Olomouc: Rubico, 2013:163.

[9] Kren V. a Walterová D. Silybin and silymarin – new effects and applications. Biomed. Papers [online]. 2005;149(1):29-41. 24.6.2005. In: Mefanet [cit. 2019-11-30]. Dostupné z: https://mefanet.upol.cz/BP/2005/1/29.pdf. Přístup 30.11.2019

[10] Abouzid S. Silymarin, Natural Flavonolignans from Milk Thistle. Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health [online]. 2012;2012(12):1-20. 21.3.2012 In: IntechOpen. Dostupné z: http://www.intechopen.com/books/phytochemicals-a-global-perspective-of-their-role-in-nutrition-and-health/silymarin-natural-flavonolignans-from-milk-thistle,str.263. Přístup 1.12.2019

[11] Borah A., Paul R., Choudhury S., Choudhury A., Bhuyan B., Das Talukdar A., Dutta Choudhury M. a Mohanakumar K. *Neuroprotective Potential of Silymarin against CNS Disorders: Insight into the Pathways and Molecular Mechanisms of Action* [online]. 2013;19(11):847. 14.10.2013. In: Wiley Online Library. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1111/cns.12175. Přístup 15.12.2019

[12] Amato A., Terzo S. a Mulé F. Natural Compounds as Beneficial Antioxidant Agents in Neurodegenerative Disorders: A Focus on Alzheimer's Disease. Antioxidants [online]. 2019;8(12):608. 30.11.2020. In: MDPI. Dostupné z: https://www.mdpi.com/2076-3921/8/12/608. Přístup 15.12.2019

[13] Kazazis Ch.E., Evangelopoulos A.A., Kollas A. a Vallianou N.G. The Therapeutic Potential of Milk Thistle in Diabetes. The Review of Diabetic Studies [online]. 2014;11(2):167-174. 1.8.2014. In: SBDR. Dostupné z: http://www.soc-bdr.org/content/e4/e887/volRdsVolumes14222/issRdsIssues14227/chpRdsChapters14547/strRdsArticles14585/index_en.html?preview=preview. Přístup 21.12.2019

[14] Liu ChH, Jassey A., Hsu HY. a Lin LT. Antiviral Activities of Silymarin and Derivatives. Molecules [online]. 2019;24(8):1552. 19.4.2019. In: MDPI. Dostupné z: https://www.mdpi.com/1420-3049/24/8/1552. Přístup 26.12.2019

[15] Vargas-Mendoza N. Hepatoprotective effect of silymarin. World Journal of Hepatology [online]. 2014;6(3):144-149. 27.3.2014. In: Baishideng Publishing Group. Dostupné z: http://www.wjgnet.com/1948-5182/full/v6/i3/144.htm. Přístup 27.12.2019

[16] Bijak M. Silybin, a Major Bioactive Component of Milk Thistle (Silybum marianum L. Gaernt.)—Chemistry, Bioavailability, and Metabolism. Molecules [online]. 2017;22(11):1942. 10.11.2017. In: MDPI. Dostupné z: http://www.mdpi.com/1420-3049/22/11/1942. Přístup 27.12.2019

[17] Tajmohammadi A., Razavi B.M. a Hosseinzadeh H. Silybum marianum (milk thistle) and its main constituent, silymarin, as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: A review. Phytotherapy Research [online]. 2018;32(10):1933-1949. 17.7.2018. In: Wiley Online Library. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.6153. Přístup 18.1.2020

[18] Li Volti G., Salomone S., Sorrenti V., Mangiameli A., Urso V., Siarkos I., Galvano F. a Salamone F. Effect of silibinin on endothelial dysfunction and ADMA levels

in obese diabetic mice. Cardiovascular Diabetology [online]. 2011;10(1). 14.7.2011. In: BMC. Dostupné z: http://cardiab.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2840-10-62. Přístup 10.1.2020

[19] Rajendran P., Rengarajan T., Thangavel J., Nishigaki Y., Sakthisekaran D., Sethi G., Nishigaki I. a Salamone F. The Vascular Endothelium and Human Diseases. International Journal of Biological Sciences [online]. 2013;9(10):1057-1069. 9.11.2013. In: IJBS. Dostupné z: http://www.ijbs.com/v09p1057.htm. Přístup 10.1.2020.

[20] Palomino O., Gouveia N., Ramos S., Martín M. a Goya L. Protective Effect of Silybum marianum and Silibinin on Endothelial Cells Submitted to High Glucose Concentration. Planta Medica [online]. 2017;83(01/02):97-103. 15.8.2016. In: Thieme Planta Medica. [cit. 2020-01-11]. Dostupné z: http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0042-113135. Přístup 11.1.2020

[21] Demirci B., Demir O., Dost T. a Birincioglu M. Treated effect of silymarin on vascular function of aged rats: Dependant on nitric oxide pathway. Pharmaceutical Biology [online]. 2014;52(4):453-457. 5.11.2013. In: Taylor & Francis Online. Dostupné z: http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13880209.2013.842597. Přístup 11.1.2020

[22] Demirci B., Dost T., Gokalp F. a Birincioglu M. Silymarin Improves Vascular Function of Aged Ovariectomized Rats. Phytotherapy Research [online]. 2014;28(6):868-872. 30.9.2019. In: Wiley Online Library. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.5067. Přístup 11.1.2020

[23] Bahem R., Hoffmann A., Azonpi A., Caballero-George C. a Vanderheyden P. Modulation of Calcium Signaling of Angiotensin AT1, Endothelin ETA, and ETB Receptors by Silibinin, Quercetin, Crocin, Diallyl Sulfides, and Ginsenoside Rb1. Planta Medica [online]. 2015;81(08):670-678. 17.12.2014. In: Thieme Planta Medica. Dostupné z: http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0034-1383408. Přístup 26.1.2020

[24] Sciacqua A., Perticone M., Tripepi G., Addesi D., Cassano V., Maio R., Sesti G. a Perticone F. Metabolic and vascular effects of silybin in hypertensive patients with high 1-h post-load plasma glucose. Internal and Emergency Medicine [online]. 2019;14(1):77-84. 19.9.2018. In: SpringerLink. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/s11739-018-1951-6. Přístup 26.1.2020

[25] Tajmohammadi A., Razavi B.M., Hosseinzadeh H., Addesi D., Cassano V., Maio R., Sesti G. a Perticone F. Silybum marianum (milk thistle) and its main constituent, silymarin, as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome. Phytotherapy Research [online]. 2018;32(10):1933-1949. 17.7.2018. In: Wiley Online Library. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.6153. Přístup 26.1.2020

[26] Locher R., Suter P.M., Weyhenmeyer R. a Vetter W. Inhibitory action of silibinin on low density lipoprotein oxidation. Arzneimittelforschung [online]. 1998;48(3):236-239. 03/1998. In: NCBI. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9553679. Přístup 5.4.2020

[27] Roozbeh J., Shahriyari B., Akmali M., et al. Comparative Effects of Silymarin and Vitamin E Supplementation on Oxidative Stress Markers, and Hemoglobin Levels Among Patients on Hemodialysis. Renal Failure [online]. 2011;33(2):118-123. 18.2.2011. In: Taylor & Francis Online. Dostupné z: http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/0886022X.2010.541579. Přístup 2.2.2020

[28] Asghar Z. a Masood Z. Evaluation of antioxidant properties of silymarin and its potential to inhibit peroxyl radicals in vitro. Pakistan journal of pharmaceutical sciences [online]. 2008;21(3):249-254. 07/2008. In: NCBI. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18614420. Přístup 2.2.2020

[29] Poruba M., Kazdová L., Oliayrnyk O., Malinská H., Matusková Z., Tozzi Di Angelo I., SKOP V. a Vecera R. Improvement bioavailability of silymarin ameliorates severe dyslipidemia associated with metabolic syndrome. Xenobiotica [online]. 2015;45(9):751-756. 11.6.2015. In: Taylor & Francis Online. Dostupné z: http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/00498254.2015.1010633. Přístup 8.2.2020

[30] Škottová N.,Večeřa R., Urbánek K., Váňa P., Walterová D., Cvak L., Skop V. a Večeřa R. Effects of polyphenolic fraction of silymarin on lipoprotein profile in rats fed cholesterol-rich diets. Pharmacological Research [online]. 2003;47(1):17-26. 01/2003. In: ScienceDirect. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661802002529. Přístup 8.2.2020

[31] Sobolova L., Škottová N., Večeřa R., Urbánek K., Walterová D., Cvak L. a Skop V. Effect of silymarin and its polyphenolic fraction on cholesterol absorption in rats. Pharmacological Research [online]. 2006;53(2):104-112. 02/2016. In:

ScienceDirect. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661805001623. Přístup 8.2.2020

[32] Wang L., Rotter S., Ladurner A., Heiss E., Oberlies N., Dirsch V., Atanasov A. a Večeřa R. Silymarin Constituents Enhance ABCA1 Expression in THP-1 Macrophages. *Molecules* [online]. 2016;21(1):55. 31.12.2015. In: MDPI. Dostupné z: http://www.mdpi.com/1420-3049/21/1/55. Přístup 8.2.2020

[33] Chen Y. a Deuster P. Comparison of quercetin and dihydroquercetin: Antioxidant-independent actions on erythrocyte and platelet membrane. Chemico-Biological Interactions [online]. 2009;182(1):7-12. 10.11.2009. In: ScienceDirect. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009279709002531. Přístup 27.12.2019

[34] Di Pierro F., Putignano P., Ferrara T., Raiola C., Rapacioli G. a Villanova N. Retrospective analysis of the effects of a highly standardized mixture of Berberis aristata, Silybum marianum and monacolins K and KA in patients with dyslipidemia. Clinical Pharmacology: Advances and Applications [online]. 2017;2018(9):1-7. 21.12.2016. In: Dovepress. Dostupné z: https://www.dovepress.com/retrospective-analysis-of-the-effects-of-a-highly-standardized-mixture-peer-reviewed-article-CPAA. Přístup 22.2.2020

[35] Di Pierro F., Bellone I., Rapacioli G. a Putignano P. Clinical role of a fixed combination of standardized Berberis aristata and Silybum marianum extracts in diabetic and hypercholesterolemic patients intolerant to statins. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy* [online]. 2015;2015(8):89-96. 4.2.2015. In: Dovepress. Dostupné z: http://www.dovepress.com/clinical-role-of-a-fixed-combination-of-standardized-berberis-aristata-peer-reviewed-article-DMSO. Přístup 22.2.2020

[36] Formisano E., Pasta A., Cremonini A.L. et al. Efficacy of Nutraceutical Combination of Monacolin K, Berberine, and Silymarin on Lipid Profile and PCSK9 Plasma Level in a Cohort of Hypercholesterolemic Patients. Journal of Medicinal Food [online]. 30.10.2019. In: Mary Ann Liebert, Inc. Dostupné z: https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2019.0168. Přístup 22.2.2020.

[37] Jegorov A., Flavonolignany - novověká chemie léčivé rostliny známé již před Kristem. Chemické listy. 1996;90(11):859-862. ISSN 1213-7103.

[38] Dong Z., Zhang W., Chen S. a Liu Ch. Silibinin A decreases statin-induced PCSK9 expression in human hepatoblastoma HepG2 cells. Molecular Medicine Reports [online]. 2019;20(2):1383-1392. 5.6.2019. In: SPANDIDOS Publications. Dostupné z: http://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2019.10344. Přístup 24.2.2020

[39] Poruba M., Matušková Z., Kazdová L., Oliyarnyk O. a H. Malínská H. Positive Effects of Different Drug Forms of Silybin in the Treatment of Metabolic Syndrome. Physiological research [online]. 2015;2015(64):S507-S512. 14.9.2015. In: Biomed. Dostupné z: http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/64%20Suppl%204/64_S507.pdf. Přístup 26.2.2020

[40] Orolin J., Večeřa R., Jung D., Meyer U.A., Škottová N. a Anzenbacher P. Hypolipidemic effects of silymarin are not mediated by the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. Xenobiotica [online]. 2008;37(7):725-735. 6.4.2007. In: Taylor & Francis Online. Dostupné z: http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00498250701463333. Přístup 25.2.2020

[41] Mohammadi H., Hadi A., Arab A., Moradi S., Rouhani M.H. a Anzenbacher P. Effects of silymarin supplementation on blood lipids: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. Phytotherapy Research [online]. 2019;33(4):871-880. 5.3.2019. In: Wiley Online Library. Dostupné z: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.6287. Přístup 25.2.2020

[42] Baeeri M., Mohammadi-Nejad S., Rahimifard M., Navaei-Nigjeh M., Moeini-Nodeh S., Khorasani R. a Abdollahi M. Molecular and biochemical evidence on the protective role of ellagic acid and silybin against oxidative stress-induced cellular aging. Molecular and Cellular Biochemistry [online]. 2018;441(1-2):21-33. 7.9.2017. In: Springer Link. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/s11010-017-3172-0. Přístup 26.2.2020

[43] Vahabzadeh M., Amiri N. a Karimi G. Effects of silymarin on metabolic syndrome: a review. Journal of the Science of Food and Agriculture [online].

2018;98(13):4816-4823. 7.5.2018. In: Wiley Online Library. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.9115. Přístup 27.2.2020

[44] Pignatelli P., Carnevale R. a Menichelli D. Silybin and metabolic disorders. Internal and Emergency Medicine [online]. 2019;14(1):1-3. 17.10.2018. In: Springer Link. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/s11739-018-1968-x. Přístup 27.2.2020

[45] Tajmohammadi A., Razavi B.M. a Hosseinzadeh H. Silybum marianum (milk thistle) and its main constituent, silymarin, as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: A review. Phytotherapy Research [online]. 2018;32(10):1933-1949. 17.7.2018. In: Wiley Online Library. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.6153. Přístup 27.2.2020

[46] Wat E., Wang Y., Chan K. et al. An in vitro and in vivo study of a 4-herb formula on the management of diet-induced metabolic syndrome. Phytomedicine [online]. 2018;42:112-125. 03/2018. In: ScienceDirect. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0944711318300631. Přístup 27.2.2020

[47] Cicero A., Colletti A. a Bellentani S. Nutraceutical Approach to Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): The Available Clinical Evidence. Nutrients [online]. 2018;10(9). 23.8.2020. In: MDPI. Dostupné z: http://www.mdpi.com/2072-6643/10/9/1153 Přístup 27.2.2020

[48] Singh S.,Osna N.A. a Kharbanda K.K. Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: A review. World Journal of Gastroenterology [online]. 2017;23(36):6549-6570. 28.9.2017. In: Baishideng Publishing Group. Dostupné z: http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v23/i36/6549.htm. Přístup 27.2.2020

[49] Hůlek P. a Dresslerová I. Nealkoholové ztučnění jater v klinické praxi (NAFL). Interní medicína pro praxi [online]. 2015;17(5):224-226. 26.10.2015. In: Solen Medical Education. Dostupné z: https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2015/05/03.pdf. Přístup 27.2.2020

[50] Amato A., Caldara GF, Nuzzo D., Baldassano S., Picone P., Rizzo M., Mulé F. a Di Carlo M. NAFLD and Atherosclerosis Are Prevented by a Natural Dietary Supplement Containing Curcumin, Silymarin, Guggul, Chlorogenic Acid and Inulin in

Mice Fed a High-Fat Diet. Nutrients [online]. 2017;9(5). 13.5.2017. In: MDPI. Dostupné z: http://www.mdpi.com/2072-6643/9/5/492. Přístup 27.2.2020

[51] Anushiravani A., Haddadi N., Pourfarmanbar M. a Mohammadkarimi V. Treatment options for nonalcoholic fatty liver disease [online]. 2019;31(5):613-617. 05/2019. In: Ovid. Dostupné z: http://Insights.ovid.com/crossref?an=00042737-201905000-00009. Přístup 27.2.2020

[52] Bijak M., Szelenberger R., Saluk J. a Nowak P. Flavonolignans inhibit ADP induced blood platelets activation and aggregation in whole blood. International Journal of Biological Macromolecules [online]. 2017;95:682-688. 02/2017. In: ScienceDirect. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813016320621. Přístup 4.3.2020

[53] Bijak M., Szelenberger R., Dziedzic A. a Saluk-Bijak J. Inhibitory Effect of Flavonolignans on the P2Y12 Pathway in Blood Platelets. Molecules [online]. 2018;23(2). 10.2.2018. In: MDPI. Dostupné z: http://www.mdpi.com/1420-3049/23/2/374. Přístup 4.3.2020

[54] Bijak M. a Saluk-Bijak J. Flavonolignans inhibit the arachidonic acid pathway in blood platelets. BMC Complementary and Alternative Medicine [online]. 2017;17(1). 10.8.2017. In: BMC. Dostupné z: http://bmccomplementalternmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-017-1897-7. Přístup 9.3.2020

[55] Bijak M., Dziedzic A. a Saluk-Bijak J. Flavonolignans reduce the response of blood platelet to collagen. International Journal of Biological Macromolecules [online]. 2018;106:878-884 01/2018. In: ScienceDirect. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813017321141 Přístup 9.3.2020

[56] Bijak M., Dziedzic A., Synowiec E., Sliwinski T. a Saluk-Bijak J. Flavonolignans Inhibit IL1-β-Induced Cross-Talk between Blood Platelets and Leukocytes. Nutrients [online]. 2017;9(9). 15.9.2017 In: MDPI. Dostupné z: http://www.mdpi.com/2072-6643/9/9/1022. Přístup 9.3.2020

[57] Pourová J., Applová L., Macáková K. et al. Nutrients [online]. 2019; 11(10). 24.9.2019. In: MDPI. Dostupné z: https://www.mdpi.com/2072-6643/11/10/2286. Přístup 11.3.2020

[58] Razavi BM a Karimi G. Protective effect of silymarin against chemical-induced cardiotoxicity. Iranian Journal of Basic Medical Sciences [online]. 2016;19:916-923 09/2016. In: NCBI. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5080420/. Přístup 13.3.2020

[59] Muthumani M. a Prabu S.M.. Silibinin potentially attenuates arsenic-induced oxidative stress mediated cardiotoxicity and dyslipidemia in rats. Cardiovascular Toxicology [online] 2014;14(1):83-97. 24.9.2013. In: SpringerLink. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/s12012-013-9227-x. Přístup 13.3.2020

[60] Avci H., Epikmen E.T., Ipek E., et al. Protective effects of silymarin and curcumin on cyclophosphamide-induced cardiotoxicity. Experimental and Toxicologic Pathology [online]. 2017;69(5):317-327. 07/2017. In: ScienceDirect. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0940299317300908. Přístup 17.3.2020

[61] El-Shitany A.N., El-Haggar S. a El-Desoky K. Silymarin prevents adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats. Food and Chemical Toxicology [online]. 2008;46(7):2422-2428. 07/2008. In: ScienceDirect. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691508001579. Přístup 21.3.2020

[62] Cecen E., Dost T., Culhaci N., Karul A. a Ergur B. Protective effects of silymarin against doxorubicin-induced toxicity. Asian Pacific J Cancer Prev [online]. 2011;12:2697-2704. 2011. In: Journal.waocp. Dostupné z: http://journal.waocp.org/article_25968_28902e01116e35462530a0265159575a.pdf. Přístup 21.3.2020

[63] Raškovič A., Stilinovič N., Kolarovič J., Vasovič V., Vukmirovič S. a Mikov M. The Protective Effects of Silymarin against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity and Hepatotoxicity in Rats. Molecules [online]. 2011;16(10):8601-8613. 12.10.2011. In: MDPI. Dostupné z: http://www.mdpi.com/1420-3049/16/10/8601. Přístup 21.3.2020

[64] Anestopoulos I., Kavo A., Tentes I., Kortsaris A., Panayiotidis M., Lazou A. a Pappa A. Silibinin protects H9c2 cardiac cells from oxidative stress and inhibits phenylephrine-induced hypertrophy: potential mechanisms. The Journal of Nutritional Biochemistry [online]. 2013;24(3):586-594. 03/2013. In: ScienceDirect. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0955286312000757. Přístup 22.3.2020

[65] Zhou B., Wu LJ, Li LH, Tashiro S., Onodera S., Uchiumi F. a Ikejima T. Silibinin Protects Against Isoproterenol-Induced Rat Cardiac Myocyte Injury Through Mitochondrial Pathway After Up-regulation of SIRT1. Journal of Pharmacological Sciences [online]. 2006;102(4):387-395 2006. In: J-STAGE. Dostupné z: http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.JSTAGE/jphs/FPJ06005X?from=CrossRef. Přístup 23.3.2020

[66] Zhou B., Wu LJ, Tashiro S., Onodera S., Uchiumi F. a Ikejima T. Silibinin Protects Rat Cardiac Myocyte from Isoproterenol-Induced DNA Damage Independent on Regulation of Cell Cycle. Biological and Pharmaceutical Bulletin. [online]. 2006;29(9): 1900-1905. 2006. In: J-STAGE. Dostupné z: https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/29/9/29_9_1900/_article. Přístup 23.3.2020

[67] Taleb A., Ahmad K.A., Ihsan A.U. et al. Antioxidant effects and mechanism of silymarin in oxidative stress induced cardiovascular diseases. Biomedicine & Pharmacotherapy [online]. 2018;102:689-698. 06/2018. In: ScienceDirect. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332218302476. Přístup 26.3.2020

[68] Di Costanzo A. a Angelico R. Formulation Strategies for Enhancing the Bioavailability of Silymarin: The State of the Art. Molecules [online]. 2019;24(11). 7.6.2019. In: MDPI. Dostupné z: https://www.mdpi.com/1420-3049/24/11/2155. Přístup 15.4.2020

8. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 : Ostropestřec mariánský (Silybum marianum) 15
Obr. 2 : Chemická struktura jednotlivých složek silymarinového komplexu 20
Obr. 3 : Chemická struktura kvercetinu a taxifolinu 21
Obr. 4 : Biosyntéza hlavní účinné látky - silybinu 24
Obr. 5 : Mechanismy antioxidačního působení silymarinu 35
Obr. 6 : Vliv na aktivitu β-galaktosidázy 39
Obr. 7 : Vliv silymarinu na jednotlivé ukazatele oxidačního stresu 39
Obr. 8 : Účinek jednotlivých forem silybinu na hladiny lipidů 48
Obr. 9 : Mechanismy účinku silymarinu na jednotlivé složky metabolického syndromu 53
Obr. 10 : Schematické znázornění silybinu na kardiometabolických onemocněních 54
Obr. 11 : Účinky flavonolignanů v jednotlivých dávkách na aktivované krevní destičky 57
Obr. 12 : Struktura testovaných sloučenin 62