

КЛИНИЧЕСКАЯ ПРАКТИКА

УДК 616...-085.373

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ШРОТА РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

^{1,2} В.В.Шаройко, ^{2,3} А.Г.Рахманова, ³ Е.Ю.Колпащикова, ³ Н.Г.Захарова, ⁴ А.Г.Шевалдин, ⁵ Е.А.Жмаев

¹ Лаборатория биомедицинской химии, Институт химии Санкт-Петербургского государственного университета, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова, Россия

³ Санкт-Петербургский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Россия

⁴ Городская поликлиника № 74, г. Кронштадт, Россия

⁵ Фармакологическое объединение им. Л.Пастера, Санкт-Петербург, г. Кронштадт, Россия

APPLICATION OF MILK THISTLE SCHROTH REDUCES A VIRAL LOAD IN PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS C

^{1,2} V.V.Sharoyko, ^{2,3} A.G.Rakhmanova, ³ E.Y.Kolpashikova, ³ N.G.Zakharova, ⁴ A.G.Shevaldin, ⁵ E.A.Zmaev

¹ Biomedicinal Chemistry Laboratory, Institute of Chemistry Saint-Petersburg State University, Russia

² First Pavlov State Medical University of Saint-Petersburg, Russia

³ Saint-Petersburg Center for Control of Infectious Diseases and AIDS, Russia

⁴ Saint-Petersburg Municipal out-patients clinic № 74, Kronstadt, Russia

⁵ Louis Pasteur Pharmacological Association, Saint-Petersburg, Kronstadt, Russia

© Коллектив авторов, 2016 г.

Приведены результаты применения шрота расторопши пятнистой для снижения вирусной нагрузки у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С. У этих пациентов была неэффективна комбинированная противовирусная терапия пегинтерфероном и рибавирином. Шрот расторопши содержит силимарин (смесь 7-ми веществ класса флаволигнанов) и назначался 39 пациентам в дозе 1 г/кг массы тела, что значительно превышало дозировки, используемые в других исследованиях. Через 50 дней после применения шрота у 28 пациентов (72% от общего числа пациентов) отмечалось статистически достоверное снижение вирусной нагрузки и активности АЛТ в 5,1 раза и 1,7 раза соответственно. У 8 пациентов (20,5% от общего числа пациентов) не наблюдалось снижения вирусной нагрузки и активности АЛТ. Рекомендуется продлить прием шрота расторопши пятнистой до 48 недель с мониторингом клинико-лабораторных показателей.

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит С, вирусная нагрузка, АЛТ, шрот расторопши, силимарин.

The article presents the results of milk thistle schroth administration to reduce viral load in patients with chronic viral hepatitis C. These patients did not respond to combined antiviral therapy with peginterferon and ribavirin. Milk thistle schroth contains silymarin (a mixture of 7 compounds called flavolignans) and administrated at a dosage of 1 g/kg body weight in 39 patient, which is much higher than the dosages used in previous studies. 50 days after the administration of schroth in 28 patients (72% of all patients) there were a significant reduction of viral load and ALT activity to 5,1 times and 1,7 times, respectively. In 8 patients (20,5% of total patients), there was no reduction of viral load and ALT activity. It is recommended to extend the receiving milk thistle schroth up to 48 weeks with monitoring of clinical and biochemical parameters.

Key words: chronic viral hepatitis C, viral load, ALT, milk thistle schroth, silymarin.

Введение. Расторопша пятнистая, или молочный чертополох (*лат.:* *Silybum marianum* (L.) Gaertn), относится к виду травянистых растений из рода Расторопша семейства Астровых высотой 60–150 см с пурпурно-красными цветами (фиолетового или лилового оттенков). Лечебные

свойства расторопши, в частности ее плодов (*лат.:* *Cardui mariae fructus*, *син.* *Fructus Silybi Mariae*; *англ.* *milk thistle fruit*), были известны еще в античные времена, когда ее применяли в качестве средства для лечения заболеваний печени и желчного пузыря. Первое упоминание в лите-

ратуре о гепатопротекторном действии расторопши пятнистой датируется 70-ми годами XX века в труде De Materia Medica Диоскорида Педания [1]. Также расторопша пятнистая применялась при различных отравлениях, включая укусы змей и насекомых, грибами и алкоголем [2].

Активное применение расторопши пятнистой в клинической практике в качестве гепатопротектора началось с 70-х годов XX века [3, 4]. Исследование расторопши пятнистой ведется и в XXI веке, опубликовано около 2300 статей, которые приведены в базе цитирования биологических, химических и медицинских публикаций PubMed.

В плодах расторопши пятнистой содержится силимарин — смесь веществ класса флаволигнанов

се России, путем измельчения холодного отжима масла. Шрот расторопши содержит около 5% силимарина (данные авторов), а также ненасыщенные жирные кислоты (олеиновую, линолевую, линоленовую и арахидоновую), эфирные масла и клетчатку [7].

Терапевтическая активность силимарина основана на следующих механизмах действия. Силимарин стабилизирует мембраны гепатоцитов, и тем самым препятствует рециркуляции энтерогепатических токсинов и обладает антиоксидантным действием [8].

Силимарин стимулирует регенерацию пораженной печени за счет увеличения активности белоксинтезирующих систем клетки (увеличение синтеза рРНК и, соответственно, синтеза белка) [9]. Также в исследованиях *in vitro* установлена спо-

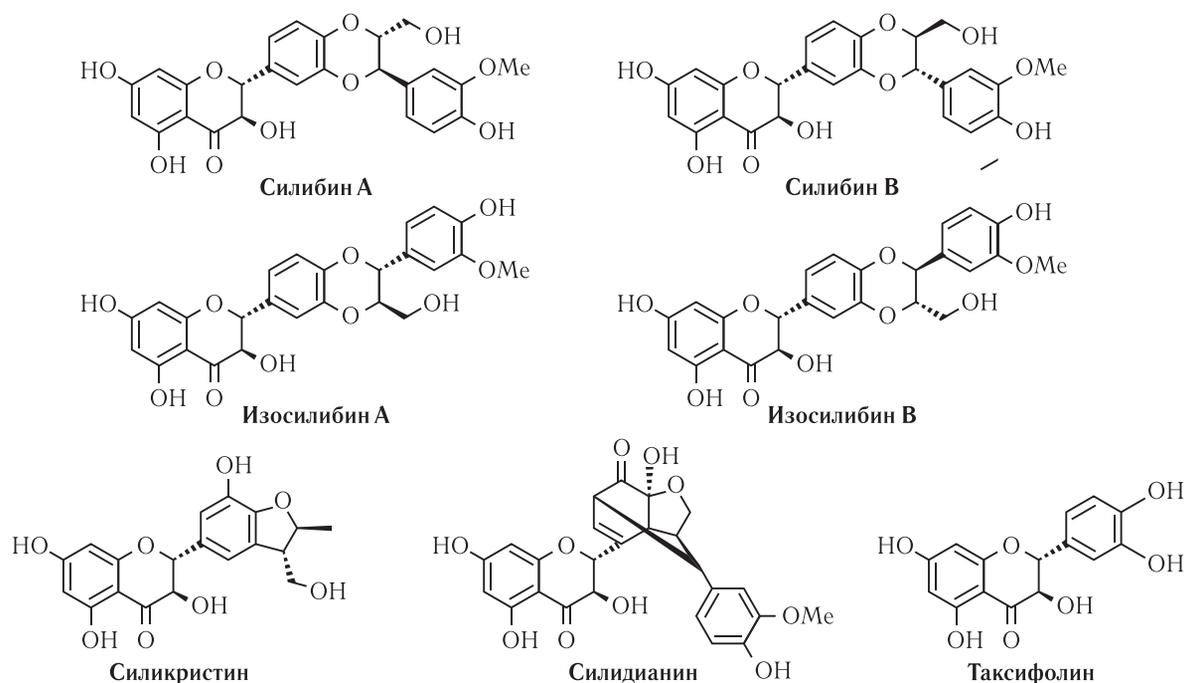


Рис. 1. Химическое строение флаволигнанов расторопши пятнистой.

нов (1,5–3,0%; рис. 1). Основные компоненты этого комплекса — силибин, или силибинин (на его долю приходится 60–70%), силикристин (20%), силидианин (10%) и изосилибин (5%) [5]. Также в состав расторопши входят алкалоиды, сапонины, масло (до 25%), белки, витамин К, смолы, слизь, тирамин, гистамин, а также макро- и микроэлементы [6]. Силимарин определяется во всех частях растения, однако в плодах его концентрация наивысшая. Экстракты расторопши пятнистой стандартизуют по содержанию силибина как компонента с наибольшей биологической активностью [1].

Используемый шрот получают из плодов расторопши пятнистой, произрастающей в средней поло-

способность силибина, силидианина и силикристина ингибировать цАМФ-зависимую фосфодиэстеразу, которая катализирует реакцию гидролиза цАМФ. Известно, что цАМФ стабилизирует лизосомальные мембраны; повышение концентрации этого циклического нуклеотида предложено в качестве механизма стабилизации мембраны и противовоспалительной активности силимарина [10]. Вышеперечисленные механизмы обуславливают гепатопротекторные свойства силимарина. Недавно проведенные исследования *in vitro* показали, что силимарин ингибирует проникновение вируса гепатита С в гепатоциты человека путем торможения клатрин-зависимого транспорта [11].

In vitro силибинин, основной действующий компонент расторопши, в концентрации 125 мкМ ингибирует инфицирование клеток гепатоцитов вирусом гепатита С [11]. *In vivo* 125 мкМ силибинина, согласно расчетным данным, соответствуют дозе шрота расторопши 1 г/кг массы тела для ежедневного перорального приема.

Материалы и методы исследования. Для проведения исследования было получено разрешение Локального этического комитета, информированное согласие пациентов, которые вели дневник приема препарата. Пациентам ($n=39$), у которых была неэффективна терапия пегинтерфероном и рибавирином назначался шрот расторопши пятнистой в течение 50 дней в дозе 1 г/кг массы тела. Препарат принимали 2–3 раза в день, после или во время еды, смешивая с водой или кисломолочными напитками. Эти больные находятся в регистре ожидания безинтерфероновой терапии.

Вирусная нагрузка в крови оценивалась методом обратной транскрипции и ПЦР в режиме реального времени с использованием реагентов фирмы Hoffman La Roche. Активность АЛТ измерялась кинетическим методом при 340 нм с использованием системы НАДН, лактатдегидрогеназа и альфа-кетоглутаровая кислота (Reanal). Вирусная нагрузка и активность АЛТ измерялись до и после 50-дневного приема шрота расторопши. Поскольку после 50-дневного приема шрота РНК вируса гепатита С определялась в крови, было принято решение продолжить лечение шротом расторопши.

Оценка концентрации силибинина в сыворотке крови проводилась у 4-х практически здоровых добровольцев, серонегативных в отношении вирусных инфекций. Определялись содержание билирубина, активность АЛТ, концентрации глюкозы и холестерина; показатели были в пределах референтных интервалов. Шрот расторопши принимался также в дозе 1 г/кг массы тела. Измерение концентрации силибинина в сыворотке крови проводилось методом высокоэффективной обращенно-фазовой хроматографии на хроматографе фирмы Agilent 1200 с детектором типа ионная ловушка Ion Trap 6310. В анализе использовалась хроматографическая колонка Eclipse XDB-C18, 4,6 mm ID × 150 mm, 5 μm) и стандарт силибинина (смесь изомеров А и В) фирмы Sigma. Силибинин был обнаружен в плазме крове у 3-х добровольцев в концентрации $12,5 \pm 4,8$ мкМ.

Статистическая обработка результатов осуществлялась с применением параметрического

парного *t*-критерия Стьюдента или непараметрического знакового теста Вилкоксона. Результаты представлены как среднее значение \pm доверительный интервал среднего значения для указанного числа обследуемых пациентов. В распределениях, не являющихся нормальными, результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25%; 75%). Достоверность полученных результатов оценивалась при уровне значимости тестируемой гипотезы $p < 0,01$.

Результаты и их обсуждение. Результаты измерения вирусной нагрузки пациентов с хроническим вирусным гепатитом С до и после 50-дневного приема шрота расторопши представлены в таблице. Среди пациентов, находившихся под наблюдением были: мужчины — 22 (56,4%) и женщины — 17 (43,6%) в возрасте от 29 до 69 лет (средний возраст — 49 лет). До 40 лет было 6 человек (15,4%), старше 40 лет — 33 человека (84,6%).

При анализе распределения пациентов по генотипу вируса гепатита С генотип 1 имели 21 (53,8%) человек, генотип 2 — 2 (5,1%) человек, генотип 3 — 9 (23,1%). По степени фиброза выделяли пациентов с фиброзом F0–2 — 11 (28,2%) и фиброзом F3–4 — 21 (53,8%). Оказалось, что большинство пациентов имели генотип 1 вируса гепатита С и степень фиброза F3–4.

У обследованных пациентов оценивался уровень вирусной нагрузки по концентрации РНК HCV и активность АЛТ до приема шрота расторопши и спустя 50 дней от начала приема (рис. 2).

При анализе результатов изменения динамики вирусной нагрузки было установлено, что она снизилась после 50-дневного приема шрота расторопши в среднем в 5,1 раза. После обработки результатов исследований была выделена группа пациентов с вирусной нагрузкой, превышающей 3 500 000 МЕ/мл и отдельно оценивалась степень ее снижения, которая составила 4,8 раза. Наряду с этим отмечено, что у 8 пациентов наблюдалось повышение вирусной нагрузки после 50-дневного приема шрота (см. рис. 2).

Важно отметить, что снижение вирусной нагрузки сопровождалось изменением активности АЛТ, которая достоверно уменьшалась после 50-дневного приема шрота расторопши (рис. 3; $p=0,004$). При этом у 11 пациентов (6 мужчин и 5 женщин) отмечена нормализация активности АЛТ до референтных значений (у мужчин <41 МЕ/мл и у женщин <31 МЕ/мл). В то же время у пациентов, не ответивших снижением вирусной нагрузки после

Таблица

Регистр пациентов, получавших шрот расторопши пятнистой

Пол	Возраст, лет	Генотип HCV	Степень фиброза	Ранее проведенная ПВТ	Вирусная нагрузка до назначения, МЕ/мл	Вирусная нагрузка через 50 дней, МЕ/мл	АЛТ до назначения, нмоль/(с.л)	АЛТ через 50 дней, нмоль/(с.л)
Мужской	36	1	F1	Рецидив	2 000 000	9800	183,00	63
Женский	54	3	F4	Рецидив	900 000	9300	156,00	92
Женский	64	1b	F4	Неответ.	1 500 000	40 000	59,00	38
Женский	60	3	F4	Рецидив	3 010 000	83 000	169,00	65
Мужской	64	—	—	Отсутств.	240 000	7900	33,00	27
Женский	63	2	F4	Рецидив	2 190 000	74 000	225,00	78
Мужской	51	—	—	Отсутств.	950 000	67 000	64,00	33
Женский	64	1b	F3	Рецидив	800 000	74 000	68,00	31
Мужской	58	3	F2	Рецидив	8 822 642	880 000	89,00	78
Женский	61	1	F4	Неответ.	6 590 000	670 000	69,00	56
Мужской	29	3a	F0	Отсутств.	4 600 000	600 000	29,00	15
Женский	64	1b	F4	Отсутств.	1 200 000	160 000	45,00	25
Мужской	54	1	F1	Отсутств.	2 797 807	380 000	75,00	64
Мужской	52	3	F3	Рецидив	300 000	55 000	74,00	45
Мужской	67	1b	F1	Неответ.	7 100 000	1 800 000	39,00	29
Мужской	38	1	F1	Рецидив	300 000	83 000	173,00	97
Мужской	49	1b	F2	Отсутств.	3 570 000	1 100 000	78,00	100
Мужской	53	1b	F4	Отсутств.	952 780	310 000	120,00	65
Мужской	51	1	F4	Рецидив	700 000	290 000	123,00	75
Мужской	50	1b	F3	Неответ.	835 000	360 000	70,00	45
Мужской	38	—	—	Отсутств.	1 100 000	500 000	29,00	18
Мужской	45	1b	F2	Отсутств.	139 000	64 000	35,00	27
Мужской	42	2	F4	Неответ.	4 940 000	2 300 000	45,00	53
Женский	41	—	—	Отсутств.	1 300 000	640 000	39,00	27
Женский	48	3	F1	Отсутств.	1 727 858	950 000	87,00	35
Мужской	54	1b	F4	Неответ.	120 000	83 000	53,00	38
Женский	32	—	—	Отсутств.	110 000	81 000	27,00	25
Женский	58	3	F1	Рецидив	20 000	17 000	32,00	28
Женский	60	1	F3	Неответ.	380 000	Отказ	96,00	
Женский	67	1a	F4	Неответ.	29 000	110 000	69,00	63
Мужской	54	3	F4	Рецидив	50 000	180 000	75,00	50
Мужской	51	1a	F2	Отсутств.	10 900	36 000	45,00	53
Женский	52	1b	F3	Неответ.	110 000	310 000	19,00	25
Женский	69	1a+1b	F3	Отсутств.	69 000	Отказ	89,00	
Мужской	38	—	—	Отсутств.	22 000	52 000	23,00	20
Мужской	54	—	—	Отсутств.	86 000	160 000	33,00	45
Женский	61	1b	F4	Неответ.	4 020 000	6 000 000	55,00	64
Мужской	51	3	F4	Неответ.	359 150	500 000	115,00	139
Женский	56	1	F4	Неответ.	160 000	Аллергический дерматит	45,00	—

приема шрота расторопши, активность АЛТ практически не изменялась (см. рис. 3; $p=0,60$).

Прием шрота расторопши у 3-х пациентов сопровождался побочными эффектами. Двое из них отказались от приема шрота из-за горечи во

рту и трудностями приема. У одной пациентки спустя 5 дней от начала приема препарата появилась сыпь аллергического характера на голенях, ей био-препарат был отменен. Остальные пациенты переносили шрот без каких-либо побочных эффектов,

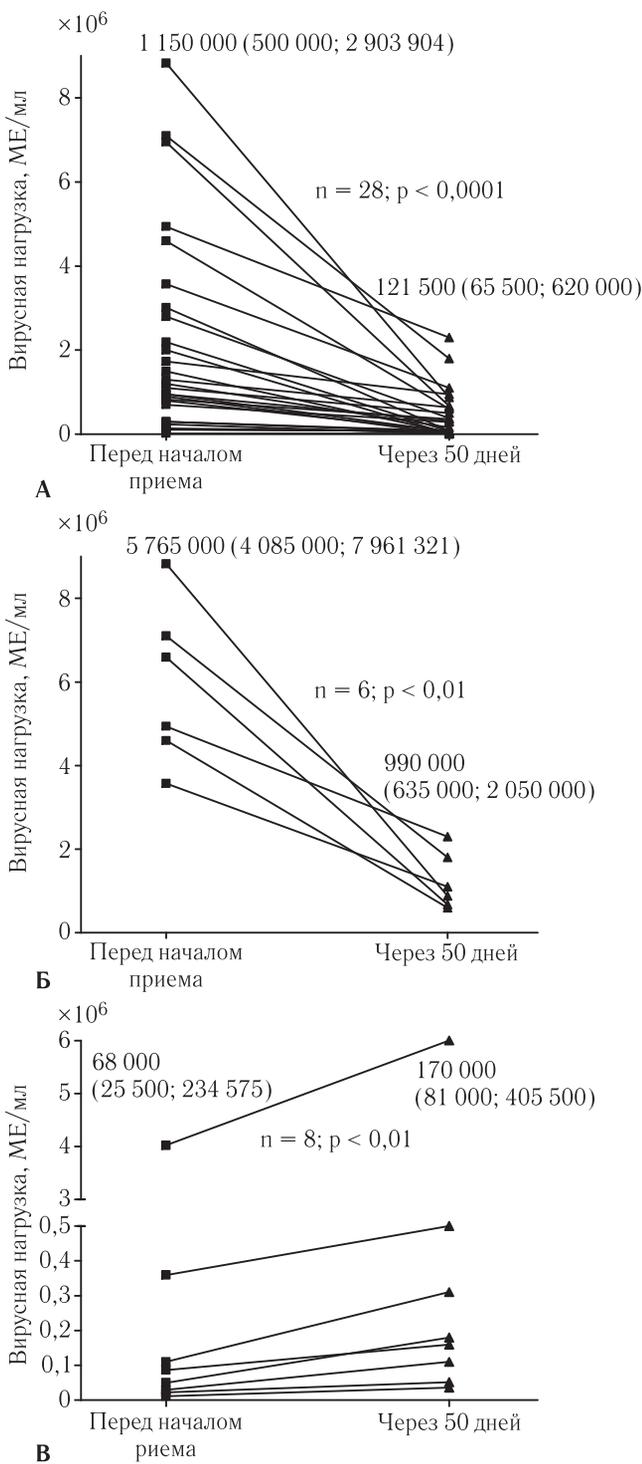


Рис. 2. Варианты изменения вирусной нагрузки у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С до и после 50-дневного приема шрота расторопши. **А** — снижение вирусной нагрузки. **Б** — снижение вирусной нагрузки у пациентов с изначально высокими значениями вирусной нагрузки. **В** — повышение вирусной нагрузки.

а пациенты, которые страдали обстипацией, отмечали нормализацию стула.

Планируется дальнейшее изучение эффективности применения шрота расторопши у пациентов с хроническим гепатитом С с определением ком-

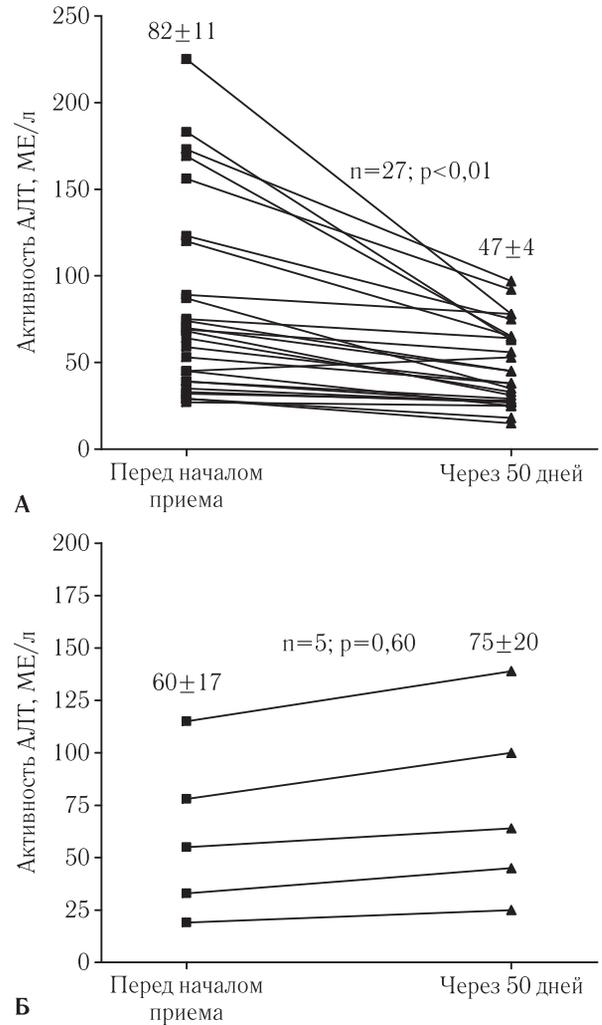


Рис. 3. Изменения активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С до и после 50-дневного приема шрота расторопши. **А** — снижение активности АЛТ. **Б** — активность АЛТ у пациентов, не показавших значимого снижения вирусной нагрузки.

плекса биохимических показателей, включающих показатели липидов холестаза и динамику концентрации глюкозы в крови.

Заключение. Эффективность приема шрота отмечена у $\frac{2}{3}$ пациентов преимущественно с 1b генотипом вирусного гепатита С по достоверному снижению вирусной нагрузки и снижению активности АЛТ. Рекомендуется увеличить длительность приема шрота расторопши до 48 недель с оценкой уровня вирусной нагрузки и клинико-биохимических показателей, а также концентрации силибинина в крови. Назначение шрота расторопши может быть рекомендовано пациентам с хроническим вирусным гепатитом С.

Благодарность Российскому научному фонду, № 14-50-00069, рег. № ИАС НИД 0.53.1740.2014: «Трансляционная биомедицина в СПбГУ».

ЛИТЕРАТУРА

1. Luper S. A review of plants used in the treatment of liver disease: part 1 // *Altern. Med. Rev.* — 1998. — Vol. 3 (6). — P. 410–421.
2. Kren V., Walterova D. Silybin and silymarin — new effects and applications // *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech. Repub.* — 2005. — Vol. 149 (1). — P. 29–41.
3. Pradhan S.C., Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine // *Indian J. Med. Res.* — 2006. — Vol. 124 (5). — P. 491–504.
4. Лейдерман И.Н. Синдром полиорганной недостаточности (ПОН). Метаболические основы // *Вестник интенсивной терапии.* — 1999. — № 2. — С. 13–17.
5. Wellington K., Jarvis B. Silymarin: a review of its clinical properties in the management of hepatic disorders // *BioDrugs.* — 2001. — Vol. 15 (7). — P. 465–489.
6. Кулинский В.И. Обезвреживание ксенобиотиков // *Соросовский образовательный журнал.* — 1991. — № 1. — С. 8–12.
7. Пащенко Л.П., Санина Т.В., Пащенко В.Л., Мирошниченко Л.А., Дьяков В.А. Шрот расторопши пятнистой в хлебобулочных изделиях // *Современные наукоемкие технологии.* — 2007. — № 7. — С. 15–19.
8. McPartland J.M. Viral hepatitis treated with *Phyllanthus amarus* and milk thistle (*Silybum marianum*): A case report // *Complementary Medicine International.* — 1996. — March/April. — P. 40–42.
9. Sonnenbichler J., Goldberg M., Hane L., Madubunyi I., Vogl S., Zettl I. Stimulatory effect of silibinin on the DNA synthesis in partially hepatectomized rat livers: non-response in hepatoma and other malignant cell lines // *Biochem. Pharmacol.* — 1986. — Vol. 35. — P. 538–541.
10. WHO monographs on selected medicinal plants. *Fructus Silybi Mariae*. World Health Organization, Geneva, 2002. — Vol. 2. — P. 300–316.
11. Blaising J.L., Lévy P.L., Gondeau C., Phelip C., Varbanov M., Teissier E., Ruggiero F., Polyak S.J., Oberlies N.H., Ivanovic T., Boulant S., Pêcheur E.I. Silibinin inhibits hepatitis C virus entry into hepatocytes by hindering clathrin-dependent trafficking // *Cell. Microbiol.* — 2013. — № 15 (11). — P. 1866–1882. — doi: 10.1111/cmi.12155. Epub 2013, Jun 14.

References

1. Luper S. A review of plants used in the treatment of liver disease: part 1, *Altern. Med. Rev.*, 1998, vol. 3 (6), pp. 410–421.
2. Kren V., Walterova D. Silybin and silymarin — new effects and applications, *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech. Repub.*, 2005, vol. 149 (1), pp. 29–41.
3. Pradhan S.C., Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine, *Indian J. Med. Res.*, 2006, vol. 124 (5), pp. 491–504.
4. Leyderman I.N., *Vestnik intensivnoy terapii*, 1999, No. 2, pp. 13–17.
5. Wellington K., Jarvis B. Silymarin: a review of its clinical properties in the management of hepatic disorders, *BioDrugs*, 2001, vol. 15 (7), pp. 465–489.
6. Kulinskiy V.I., *Sorosovskiy Obrazovatel'nyy Zhurnal*, 1991, No. 1, pp. 8–12.
7. Pathenko L.P., Sanina T.V., Pathenko V.L., Miroshnichenko L.A., Djyakov V.A., *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*, 2007, No. 7, pp. 15–19.
8. McPartland J.M. Viral hepatitis treated with *Phyllanthus amarus* and milk thistle (*Silybum marianum*): A case report, *Complementary Medicine International*, 1996. — March/April, pp. 40–42.
9. Sonnenbichler J., Goldberg M., Hane L., Madubunyi I., Vogl S., Zettl I. Stimulatory effect of silibinin on the DNA synthesis in partially hepatectomized rat livers: non-response in hepatoma and other malignant cell lines, *Biochem. Pharmacol.*, 1986, vol. 35, pp. 538–541.
10. WHO monographs on selected medicinal plants. *Fructus Silybi Mariae*. *World Health Organization*, Geneva, 2002, Vol. 2, pp. 300–316.
11. Blaising J.L., Levy P.L., Gondeau C., Phelip C., Varbanov M., Teissier E., Ruggiero F., Polyak S.J., Oberlies N.H., Ivanovic T., Boulant S., Pêcheur E.I. Silibinin inhibits hepatitis C virus entry into hepatocytes by hindering clathrin-dependent trafficking, *Cell. Microbiol.*, 2013, No. 15 (11), pp. 1866–1882, doi: 10.1111/cmi.12155, Epub 2013 Jun 14.

Статья поступила 13.09.2015 г.

Контактная информация: Шаройко Владимир Владимирович, e-mail: sharoyko@gmail.com

Коллектив авторов:

Шаройко Владимир Владимирович — д.б.н., в.н.с. лаборатории биомедицинской химии Института химии Санкт-Петербургского государственного университета, Петродворец, Университетский пр. 26, каб. 4206, e-mail: sharoyko@gmail.com;

Рахманова Аза Гасановна — д.м.н., профессор кафедры социально-значимых инфекций Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П.Павлова; зам. главного врача Санкт-Петербургского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, 190103, Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, 179, e-mail: aza.rakhmanova@gmail.com;

Колпацкова Елена Юрьевна — врач-инфекционист Санкт-Петербургского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, 190103, Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, 179, e-mail: polet_orla@mail.ru;

Захарова Наталья Георгиевна — д.м.н., клинический фармаколог Санкт-Петербургского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, 190103, Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, 179;

Шевалдин Анатолий Геннадьевич — к.м.н., врач-инфекционист СПб ГБУЗ «Городская поликлиника № 74», г. Кронштадт, ул. Комсомола, 2, (812) 311-61-22;

Жмаев Евгений Аленович — зам. генерального директора Фармакологического объединения им. Л.Пастера, Санкт-Петербург, Кронштадт, e-mail: jea@zdravushka.ru.