

THE POSSIBILITIES OF SILYMARIN EXTRACT USE IN ALCOHOLIC LIVER DISEASE – A LITERATURE REVIEW

MOŻLIWOŚĆ ZASTOSOWANIA EKSTRAKTU SYLIMARYNY W ALKOHOLOWEJ CHOROBIE WĄTROBY – PRZEGLĄD LITERATURY

Aleksandra Kołota

Department of Dietetics, Faculty of Human Nutrition and Consumer Sciences, Warsaw University of Life Science – SGGW, Poland

Katedra Dietetyki, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Polska

Alcohol Drug Addict 2017; 30 (2): 137-154

DOI: <https://doi.org/10.5114/ain.2017.70290>

Abstract

The development of alcoholic liver disease (ALD), characterised by different degrees of liver damage, may be one of the possible effects of the long-term, excessive alcohol consumption. The treatment is based on total abstinence, which affects a significant mortality reduction and on nutritional therapy associated with excessive weight loss and muscle atrophy prevention, as well as reducing vitamin and mineral deficiency, especially as these patients are very often at risk of malnutrition. Ethanol transformation in the body leads to the free radical production, which generates so called oxidative stress. As this is considered the main factor in the liver damage, researchers have been trying to identify substances that could have a significant effect on oxidative stress reduction. The aim of the study was to define the possibility of applying the silymarin extract from seeds of milk thistle as a supporting element in the nutritional treatment of alcoholic liver disease and to characterise its potential ad-

Streszczenie

Efektom długotrwałego spożywania nadmiernych ilości alkoholu etylowego jest rozwój alkoholowej choroby wątroby (*alcoholic liver disease* – ALD), cechującej się różnego stopnia uszkodzeniami narządu. Podstawą leczenia jest całkowita abstynencja, która wpływa na znaczące zmniejszenie śmiertelności pacjentów, i leczenie dietetyczne, polegające na przeciwdziałaniu nadmiernej utracie masy ciała, zanikowi mięśni oraz wyrównywaniu niedoborów witamin i składników mineralnych, zwłaszcza że ta grupa pacjentów jest bardzo często narażona na niedożywienie. Przemiany etanolu w organizmie prowadzą do produkcji znacznych ilości wolnych rodników, odpowiedzialnych za powstanie zjawiska tzw. stresu oksydacyjnego. Jest on uważany za główny czynnik uszkadzający wątrobę, dlatego badacze poszukują substancji, które mogłyby mieć istotny wpływ na jego zmniejszenie. Celem niniejszej pracy było określenie na podstawie aktualnie dostępnego piśmiennictwa możliwości zastosowania ekstraktu

Correspondence to/Adres do korespondencji: Aleksandra Kołota, Katedra Dietetyki, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159c, 02-766 Warszawa, Polska, phone: +48 22 593 71 26, fax: +48 22 593 70 18, e-mail: aleksandra_kolota@sggw.pl

Authors' contribution/Wkład pracy autorów

No ghostwriting declared./Nie występuje zjawisko *ghostwriting*.

Submitted/Otrzymano: 13.03.2017 • **Accepted/Przyjęto do druku:** 06.06.2017

verse effects based on the currently available literature. Studies conducted in groups of patients at various stages of alcoholic liver disease provide ambiguous results. This may be due to the applied time and dosage of the silymarin extract, due to the fact that its components are characterised by low water and fats solubility, as well as low re-absorption in the intestine. It is also possible that bioavailability is influenced by the patient's nutritional state. However, in experiments applied in various laboratory animal models, most of the results indicated that the silymarin first of all normalises liver enzyme levels, has also a positive influence on the parameters of antioxidative defense, reduces lipid peroxidation and inhibits the production of inflammatory response mediators. It is especially important that no side effects were observed during use of the silymarin extract in any study. It may be concluded that alcoholic liver disease patients may experience some benefits while using silymarin extract, especially given that all studies confirmed its safety.

Keywords: Ethanol, Alcoholic liver disease, Milk thistle, Silymarin

sylimaryny, pozyskiwanego z nasion ostropestu plamistego, jako elementu wspomagającego leczenie dietetyczne pacjentów z ALD oraz charakterystyka ewentualnych skutków niepożądanych. Wnioski wpływające z badań prowadzonych z udziałem pacjentów w różnych stadiach ALD są niejednoznaczne. Prawdopodobnie wpływ na to ma dawka ekstraktu sylimaryny i czas jej stosowania, jak również to, że jej składniki wykazują niską rozpuszczalność w wodzie i tłuszczach, a ich resorpcja w jelitach jest ograniczona. Na biodostępność może mieć także wpływ stan odżywienia pacjenta. W doświadczeniach z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych stosowano różne modele badawcze – większość wyników wskazuje jednak, że sylimaryna przede wszystkim normalizuje poziom enzymów wątrobowych, a ponadto wpływa korzystnie na parametry obrony antyoksydacyjnej, ogranicza proces peroksydacji lipidów i hamuje produkcję mediatorów odpowiedzi zapalnej. Co ważne, w żadnym badaniu nie obserwowano efektów ubocznych stosowania ekstraktu sylimaryny. Analiza piśmiennictwa skłania do wniosku, że pacjenci z ALD mogą odnieść pewne korzyści ze stosowania ekstraktu sylimaryny, zwłaszcza że wszystkie badania potwierdzają jej bezpieczeństwo.

Słowa kluczowe: etanol, alkoholowa choroba wątroby, ostropest plamisty, sylimaryna

■ INTRODUCTION

A consequence of long-term alcohol consumption is the development of alcoholic liver disease (ALD), that may be characterised by varying degrees of organ damage like fatty liver (or hepatic steatosis), inflammation, fibrosis or cirrhosis [1]. Malnourishment is the most common complication of this condition and concerns both protein-energy malnutrition and the lack of basic nutritional elements, and heavy malnourishment is correlated with the severe course of ALD [2]. The basic treatment for ALD is abstinence, which significantly reduces patient mortality [3], while the nutritional procedure focuses on counteracting excessive body mass loss and muscle atrophy as well as on making up vitamin and mineral deficit [4]. The treatment procedure depends on the condition advancement and may be subject to change. Apart from abstinence and nutrition therapy, a key role is played by psychotherapy while pharmacotherapy is also

■ WPROWADZENIE

Konsekwencją długotrwałego spożywania alkoholu jest rozwój alkoholowej choroby wątroby (*alcoholic liver disease* – ALD), która może się cechować różnym stopniem uszkodzenia narządu, tj. stłuszczeniem, zapaleniem, zwłóknieniem lub marskością [1]. Niedożywienie jest najczęstszym powikłaniem tego schorzenia i dotyczy zarówno niedożywienia białko-energetycznego, jak i niedoboru poszczególnych składników odżywczych, a ciężkie niedożywienie koreluje z ciężkim przebiegiem ALD [2]. Podstawą leczenia ALD jest abstynencja, która znacząco zmniejsza śmiertelność pacjentów [3], natomiast postępowanie żywieniowe koncentruje się na przeciwdziałaniu nadmiernej utracie masy ciała i zanikowi mięśni oraz na wyrównywaniu niedoborów witamin i składników mineralnych [4]. Sposób prowadzenia leczenia zależy od stadium choroby i może ulegać zmianie. Oprócz abstynencji i terapii żywieniowej kluczową rolę odgrywa psychoterapia, stosuje się też

applied [5]. Procedural standards for ALD have not hitherto been worked out though researchers are still examining new methods for treating the conditions as well as substances that may have a significant supportive role at various stages of the illness. According to American data, the most frequently applied substances in the treatment of liver conditions are preparations containing garlic or silymarin, and to a lesser extent also ginseng, green tea, ginkgo, St John's wort and liquorice root [6]. One of the more important plant sources is the milk thistle (*Silybum marianum*), known for centuries for its potentially beneficial effects on liver functioning, and in recent years a substance that has raised particular interest has been a compound of silymarin extracted from the seeds of the milk thistle. This contains a number of flavonolignans including silibinin, isosilibinin, silidianine and silichristine [7]. *In vitro* studies have revealed that silymarin is characterised by antioxidative [8] anti-inflammatory, anti-proliferatory [9], anti-fibrogenic [10] and immunomodulatory properties [11]. Due to its wide spectrum of activity, silymarin may be applied in the treatment of a variety of liver conditions like viral hepatitis, liver damage caused by toxins and medications both in patients with diabetes and alcoholic liver disease [12]. A significant matter in the case of ALD sufferers is defining the potential applications of silymarin complex as an element supporting treatment which may help to improve patients' health and their quality of life.

The aim of this study was to define, on the basis of current literature, the possibility of applying the silymarin extract from milk thistle seeds as a supporting element in the nutritional treatment of alcoholic liver disease and to characterise its potential adverse effects.

■ REVIEW OF LITERATURE

The use of silymarin extract in alcoholic fatty liver

The accumulation of fat droplets in liver parenchyma is a symptom of hepatic steatosis, which occurs in around 20% of alcohol dependent persons and those abusing alcohol while in many cases, apart from liver enlargement, there are no other clinical symptoms [13]. Changes in the level of biochemical parameters involve a significant increase in the activity of liver enzymes in plasma

farmakoterapię [5]. Standardy postępowania w ALD nie zostały dotychczas wypracowane. Badacze wciąż poszukują nowych metod leczenia tego schorzenia, jak również substancji, które mogłyby mieć istotne działanie wspomagające terapię w różnych stadiach choroby. Według danych amerykańskich w leczeniu chorób wątroby najczęściej wykorzystuje się preparaty zawierające czosnek lub sylimarynę, w mniejszym stopniu także żeń-szeń, zieloną herbatę, miłorząb, dziurawiec czy korzeń lukrecji [6]. Jednym z ważniejszych surowców roślinnych, znanym od wieków jako potencjalnie korzystnie wpływający na funkcjonowanie wątroby, jest ostropest plamisty (*Silybum marianum*), a w ostatnich latach substancją wzbudzającą szczególne zainteresowanie jest pozyskiwany z nasion ostropestu plamistego kompleks sylimaryny, w skład którego wchodzi kilka flawonolignanów: sylibina, izosylibina, sylidianina i sylikrystyna [7]. W badaniach *in vitro* wykazano, że sylimaryna charakteryzuje się właściwościami antyoksydacyjnymi [8], przeciwzapalnymi i antyproliferacyjnymi [9], antyfibrotycznymi [10] oraz immunomodulacyjnymi [11]. Z uwagi na szerokie spektrum działania może być przydatna w leczeniu różnych schorzeń wątroby: zapaleń wirusowych, uszkodzeń wywołanych toksynami lub lekami, zarówno u pacjentów z cukrzycą, jak i ALD [12]. Istotną kwestią w przypadku osób z ALD jest określenie potencjalnych możliwości zastosowania kompleksu sylimaryny jako elementu wspomagającego leczenie, co mogłoby przyczynić się do poprawy stanu ich zdrowia, a tym samym jakości życia.

Celem pracy było określenie na podstawie dostępnego piśmiennictwa możliwości zastosowania ekstraktu sylimaryny pozyskiwanego z nasion ostropestu plamistego jako elementu wspomagającego leczenie dietetyczne pacjentów z ALD oraz charakterystyka ewentualnych skutków niepożądanych.

■ PRZEGLĄD LITERATURY

Stosowanie ekstraktu sylimaryny w alkoholowym stłuszczeniu wątroby

Nagromadzenie kropelek tłuszczu w miększu wątroby to objaw jej stłuszczenia, do którego dochodzi u ok. 20% osób uzależnionych od alkoholu i nadużywających alkoholu, przy czym w wielu przypadkach oprócz powiększenia wątroby nie występują inne objawy kliniczne [13]. Zmiany w poziomie parametrów biochemicznych polegają na znaczącym wzroście aktywności enzymów wątrobowych w osoczu, tj. ami-

including ALT (alanine aminotransferase), AST (aspartate aminotransferase), GGT (γ -glutamyl transpeptidase) or ALP (alkaline phosphatase), because hepatocyte damage results in these enzymes leaking from the cytoplasm into general circulation of blood [14]. Studies carried out on alcohol dependent or abusing persons have revealed a significant increase in the activity of these enzymes in the plasma [15-17]. Also, according to Torkadi *et al.* [18], the measuring the proportion of AST to ALT, GGT or ALP in patients' plasma may be useful in the diagnosis of ALD. Fatty liver is a reversible condition as long as the patient decides on maintaining abstinence or significantly reduces the amount of consumed alcohol [19].

The first studies on the effect of milk thistle seed extract treatment on ALD sufferers were conducted almost 30 years ago. ALD patients who were treated with a preparation Legalon® containing dry extract of milk thistle seeds (140 mg of silymarin per capsule) for 6 months were discovered by some researchers to have shown an improvement in liver function including a significant reduction in plasma levels of ALT and AST [20], some noted an improvement in parameters of antioxidative defence [21] and others the immunomodulating effects of silymarin [22]. Rambaldi *et al.* [23] however cast doubt on the beneficial action of milk thistle in ALD patients and/or those with hepatitis B or C virus liver diseases. According to these authors, not even 30% of analysed clinical trials were characterised by high methodological standards. Analysis indicated that the use of milk thistle did not have a significant effect on mortality, liver disease complications or the histological picture of the liver compared to the use of placebo or a lack of intervention. This study did not show whether treatment with Legalon® preparation was linked with an increased incidence of adverse effects though these ought to always be considered as there may be the result of an overreaction to the contents of the preparation.

Retrospective studies carried out in 2014 in India analysed the effects of taking Liverubin® preparation (a standardised extract with each capsule containing 140 mg of silymarin) for 11 months on liver biochemical parameters in patients with alcohol organ damage (86 persons with fatty liver and 13 with cirrhosis) [24]. The study authors noted that treatment with the recommended dose of 140 mg of silymarin three times per 24 hours caused a sig-

notransferazy alaninowej (*alanine aminotransferase* – ALT), aminotransferazy asparaginianowej (*aspartate aminotransferase* – AST), γ -glutamylotranspeptydazy (*γ -glutamyl transpeptidase* – GGT) czy fosfatazy alkalicznej (*alkaline phosphatase* – ALP), uszkodzenie hepatocytów powoduje bowiem, że enzymy te przechodzą z cytoplazmy do krążenia ogólnego [14]. Znacznie zwiększona aktywność tych enzymów w osoczu była odnotowywana w badaniach prowadzonych z udziałem osób nadużywających alkoholu [15], jak i uzależnionych od alkoholu [16, 17]. Ponadto, według Torkadiego i wsp. [18] w diagnozowaniu ALD przydatne może być określenie stosunku AST do ALT, GGT lub ALP w osoczu. Stłuszczenie wątroby jest stanem odwracalnym, jeśli pacjent zdecyduje się na zachowanie abstynencji bądź znaczne ograniczenie ilości spożywanego alkoholu [19].

Pierwsze badania dotyczące wpływu stosowania ekstraktu z nasion ostropestu plamistego u osób z ALD były prowadzone prawie 30 lat temu. U pacjentów z ALD, którzy stosowali przez 6 miesięcy preparat zawierający suchy ekstrakt – Legalon® (140 mg sylimaryny w jednej kapsułce), część badaczy wykazała poprawę funkcji wątroby, m.in. istotne obniżenie poziomu ALT i AST w osoczu [20], część obserwowała poprawę parametrów obrony antyoksydacyjnej [21], inni – immunomodulacyjne działanie sylimaryny [22]. Rambaldi i wsp. [23] podali jednak w wątpliwość korzystne działanie ostropestu plamistego u pacjentów z ALD i/lub z wirusowym zapaleniem wątroby typu B lub C. Według tych autorów tylko niespełna 30% analizowanych badań klinicznych charakteryzowało się wysoką jakością metodologiczną. Analiza wykazała, że stosowanie ostropestu, w porównaniu z placebo lub brakiem interwencji, nie miało istotnego wpływu na śmiertelność, powikłania choroby wątroby czy histologiczny obraz wątroby. W tym badaniu nie wykazano, by stosowanie preparatu Legalon® wiązało się z istotnie zwiększonym ryzykiem wystąpienia działań niepożądanych, zawsze jednak należy mieć je na względzie, mogą bowiem wynikać z nadwrażliwości na składnik preparatu.

W retrospektywnych badaniach prowadzonych w 2014 r. w Indiach analizowano wpływ stosowania przez 11 miesięcy preparatu Liverubin® (standaryzowany ekstrakt sylimaryny, jedna kapsułka zawiera 140 mg sylimaryny) na parametry biochemiczne wątroby u pacjentów z uszkodzeniem narządu wywołanym przez alkohole (86 osób ze stłuszczeniem i 13 osób z marskością wątroby) [24]. Autorzy badania odnotowali, że stosowanie tego preparatu w zalecanej

nificant reduction of ALT level in plasma (around 70%) and a reduction of ALP level (nearly 40%). It is also significant that the preparation was well tolerated by patients and may therefore be a safe and effective means of normalising biochemical parameters in persons with ALD [24]. The safety and lack of side effects were confirmed by a pilot study assessing the activity of Liverubin® in patients with mild, temporary hepatic failure [25]. The group taking the preparation for 4 weeks showed, apart from a normalisation of biochemical liver parameters (ALT, AST, GGT and bilirubin), a significant reduction of free radicals in plasma compared to the control group. The authors emphasise that in this group of patients, silymarin extract treatment influenced faster and more effective liver function improvement than other treatment methods [25]. It is worth noting that temporary hepatic failure of a mild character may occur without symptoms as can alcohol fatty liver, while ALD patients, at the initial phases of the disease, may also benefit from silymarin extract treatment.

As regards laboratory animal studies, the results of research by Zhang *et al.* are available for review [26]. The tests described the effects of three different doses of silymarin (100 mg/kg body weight, 150 mg/kg and 200 mg/kg) on the animal model of fatty liver caused by the application of ethanol and a high-fat diet (84% standard feed with 1% additional cholesterol, 5% lard and 10% corn oil). Compared to the control group that did not receive ethanol, after six weeks in the research group there was a significantly higher concentration of liver enzymes ALT and AST, as well as triglycerides and total bilirubine in plasma, while in the liver homogenates there was a significantly higher concentration of MDA (malondialdehyde) and triglycerides and a significantly lower activity of antioxidative enzymes like SOD (*superoxide dismutase*) and GPx (*glutathione peroxidase*).

Alcohol abuse leads to the excessive production of reactive oxygen species (ROS) responsible for the reduced efficiency of antioxidative defence mechanisms both of the enzyme variety (e.g. SOD and GPx) and non-enzyme (e.g. glutathione). This leads to increases in so called oxidative stress, to which the liver is especially prone [27]. The results gained by Zhang *et al.* [26] clearly indicate increased oxidative stress and fatty liver damage that may reflect the changes occurring in persons with ALD and may present an animal model of alcoholic fatty

liver disease. The authors of the study showed that the administration of 140 mg silymarin three times a day led to a significant decrease in ALT level in plasma (around 70%) and a decrease in ALP level (nearly 40%). It is also significant that the preparation was well tolerated by patients and may therefore be a safe and effective means of normalising biochemical parameters in persons with ALD [24]. The safety and lack of side effects were confirmed by a pilot study assessing the activity of Liverubin® in patients with mild, temporary hepatic failure [25]. The group taking the preparation for 4 weeks showed, apart from a normalisation of biochemical liver parameters (ALT, AST, GGT and bilirubin), a significant reduction of free radicals in plasma compared to the control group. The authors emphasise that in this group of patients, silymarin extract treatment influenced faster and more effective liver function improvement than other treatment methods [25]. It is worth noting that temporary hepatic failure of a mild character may occur without symptoms as can alcohol fatty liver, while ALD patients, at the initial phases of the disease, may also benefit from silymarin extract treatment.

As regards laboratory animal studies, the results of research by Zhang *et al.* are available for review [26]. The tests described the effects of three different doses of silymarin (100 mg/kg body weight, 150 mg/kg and 200 mg/kg) on the animal model of fatty liver caused by the application of ethanol and a high-fat diet (84% standard feed with 1% additional cholesterol, 5% lard and 10% corn oil). Compared to the control group that did not receive ethanol, after six weeks in the research group there was a significantly higher concentration of liver enzymes ALT and AST, as well as triglycerides and total bilirubine in plasma, while in the liver homogenates there was a significantly higher concentration of MDA (malondialdehyde) and triglycerides and a significantly lower activity of antioxidative enzymes like SOD (*superoxide dismutase*) and GPx (*glutathione peroxidase*).

Alcohol abuse leads to the excessive production of reactive oxygen species (ROS) responsible for the reduced efficiency of antioxidative defence mechanisms both of the enzyme variety (e.g. SOD and GPx) and non-enzyme (e.g. glutathione). This leads to increases in so called oxidative stress, to which the liver is especially prone [27]. The results gained by Zhang *et al.* [26] clearly indicate increased oxidative stress and fatty liver damage that may reflect the changes occurring in persons with ALD and may present an animal model of alcoholic fatty

liver useful for assessment of the activity of various hepatoprotective substances. Zhang *et al.* [26] demonstrated in their animal studies that in the group of rats receiving ethanol for 6 weeks plus a 200 mg/kg bw dose of silymarin, the activity of ALT and AST and the total bilirubin concentration in plasma were significantly lower than in the group of animals with experimentally elicited alcoholic fatty liver. Meanwhile, the activity of SOD and GPx enzymes in the liver homogenates was significantly higher and the concentration of MDA and triglyceride in the liver homogenates significantly lower in relation to the group receiving only ethanol. It is worth emphasising that independently of silymarin dose, all receiving groups showed a significantly lower concentration of MDA and the activity of GPx significantly higher than in the ethanol only group. However, in the group receiving a lowest (100 mg/kg bw) silymarin dose, there was no significant statistical difference noted in the activity of SOD in comparison to the animals receiving only ethanol. These results correspond to those gained by other authors. Song *et al.* [28] demonstrated that in a group of mice subjected to short-term ethanol intoxication of a dose of 5 g/kg body weight together with a simultaneous silymarin dose of 200 mg/kg body weight, the ALT activity in plasma, concentration of triglycerides and thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) in the liver were significantly lower, and glutathione level in liver significantly higher than in the ethanol only group of mice. On the basis of the results gained, the authors indicate silymarin as an effective means preventing liver damage caused by ethyl alcohol consumption. Also other experiments conducted in *in vitro* conditions applying various tests confirmed that silymarin is an effective antioxidant substance that can neutralise free radicals and chelating metals as well as prevent or reduce lipid oxidation [8].

In animal studies, both in the short-term high alcohol input model and in the alcohol fatty liver model, the beneficial effects of silymarin were demonstrated though the observed effect depended on the applied dose. However, in human studies, it is difficult to clearly indicate the 420 mg daily silymarin dose as therapeutically effective in alcoholic fatty liver. It is possible that the noted relations resulted not only from the applied dose but also from the regular ingestion of silymarin preparation.

nasilenia tzw. stresu oksydacyjnego, na który w szczególności narażona jest wątroba [27]. Uzyskane przez Zhanga i wsp. [26] wyniki wskazują jednoznacznie na nasilony stres oksydacyjny, a także uszkodzenie wątroby (stłuszczenie), co może odzwierciedlać zmiany zachodzące u osób z ALD i stanowić zwierzęcy model alkoholowego stłuszczenia przydatny również do oceny działania rozmaitych substancji hepatoprotekcyjnych. Zhang i wsp. [26] w badaniach na zwierzętach wykazali, że w grupie szczurów, które otrzymywały przez 6 tygodni alkohol etylowy oraz sylimarynę w dawce 200 mg/kg m.c., aktywność ALT i AST oraz stężenie bilirubiny całkowitej w osoczu były istotnie niższe niż w grupie zwierząt, u których doświadczalnie wywołano alkoholowe stłuszczenie wątroby. Natomiast aktywność enzymów SOD i GPx w homogenatach wątroby była istotnie wyższa, a stężenie MDA i triglicerydów istotnie niższe w odniesieniu do grupy otrzymującej tylko etanol. Warto podkreślić, że niezależnie od dawki sylimaryny we wszystkich grupach, które ją otrzymywały, stężenie MDA było istotnie niższe, a aktywność GPx istotnie wyższa niż w grupie otrzymującej wyłącznie etanol. Natomiast w grupie otrzymującej najniższą dawkę sylimaryny (100 mg/kg m.c.) nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w aktywności SOD w porównaniu z grupą zwierząt otrzymujących tylko alkohol etylowy. Wyniki te korespondują z wynikami uzyskanymi przez innych autorów. Song i wsp. [28] wykazali, że w grupie myszy, które poddano krótkotrwałej intoksykacji etanolem w dawce 5 g/kg m.c., z jednoczesnym podaniem sylimaryny w dawce 200 mg/kg m.c., aktywność ALT w osoczu, stężenie triglicerydów i produktów peroksydacji lipidów (*thiobarbituric acid-reactive substances* – TBARS) w wątrobie były istotnie niższe, a poziom glutationu w wątrobie istotnie wyższy niż w grupie myszy otrzymujących tylko alkohol etylowy. Na podstawie uzyskanych wyników autorzy wskazują sylimarynę jako skuteczny środek przeciwdziałający uszkodzeniom wątroby wywołanym przez spożywanie alkoholu etylowego. Również inne doświadczenie przeprowadzone w warunkach *in vitro* z wykorzystaniem różnych testów potwierdziło, że sylimaryna jest skuteczną substancją przeciwutleniającą, która może neutralizować wolne rodniki, chelatować metale, jak również zapobiegać lub zmniejszać utlenianie lipidów [8].

W doświadczeniach z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych, zarówno w modelu krótkotrwałego podawania dużych ilości etanolu, jak i w modelu alkoholowego stłuszczenia wątroby, wykazano

The use of silymarin extract in alcoholic hepatitis

The second stage of ALD is inflammation, which is the effect of alcohol abuse with already present fatty liver. Alcoholic liver inflammation is recognised when liver biopsies reveals inflammatory changes, fibrosis or other hepatocyte irregularities. Clinical symptoms, among others, include stomach pains, nausea, vomiting while the inflammatory state when less intense may however be without symptoms. Among patients with alcoholic hepatitis, the activity of liver enzymes in the plasma may also be increased [29]. The basic treatment as in other stages of alcoholic liver disease, is total abstinence, but due to the risk of malnourishment, a suitable amount of calories and protein in the diet is important, as are vitamin and mineral supplements and managing the fluid and electrolyte imbalance [4, 30]. Acetaldehyde, which is a by-product of ethanol metabolism, plays an important role in the development of hepatitis as well as the compounds of acetaldehyde and proteins (e.g. collagen) causing organ damage resulting from stimulation of immunological reaction [31, 32] But the greatest contributors to hepatitis are the free radicals and pro inflammatory cytokines produced as a result of the activation of Kupffer cells and CYP2E1 cytochrome induction responsible for the metabolism of ethanol in the liver [33]. Furthermore, there follows the activation of the nuclear factor NF- κ B, which in turn increases the production of the tumour necrosis factor α (TNF- α) and thereby also contributes to liver damage [34]. This is why, at this stage of ALD, it is possible to treat with corticosteroids if there are no contraindications, which have an anti-inflammatory effect, or with substances that inhibit cytokine synthesis like pentoxifylline limiting TNF- α production [4].

In the already mentioned study by Song *et al.* [28], it was established that in the animal group receiving both ethyl alcohol and silymarin, the level of liver TNF- α was significantly smaller than in the group receiving only ethanol but higher than in the control group without either ethanol or silymarin. According to the authors, this demonstrates the inhibiting effect of silymarin on TNF- α synthesis stimulated by ethanol. Zhang *et al.* [26] analysed the influence of applying various silymarin doses on, among others, the expression

korzystne działanie sylimaryny, ale obserwowany efekt był uzależniony od zastosowanej dawki. Natomiast w przypadku badań prowadzonych z udziałem ludzi trudno jednoznacznie wskazywać dawkę 420 mg sylimaryny/dobę jako terapeutycznie skuteczną w alkoholowym stłuszczeniu wątroby. Możliwe, że odnotowane zależności wynikały nie tylko z zastosowanej dawki, lecz także z regularnego przyjmowania preparatu z sylimaryną.

Stosowanie ekstraktu sylimaryny w alkoholowym zapaleniu wątroby

Drugim stadium ALD jest stan zapalny, do którego dochodzi w efekcie nadużywania alkoholu przy już istniejącym stłuszczeniu wątroby. Alkoholowe zapalenie wątroby jest rozpoznawane, gdy biopsja wątroby wykaże zmiany zapalne, zwłóknienie lub inne nieprawidłowości w hepatocytach. Klinicznymi objawami są m.in. bóle brzucha, nudności, wymioty; stan zapalny o mniejszym nasileniu może być jednak bezobjawowy. U pacjentów z alkoholowym zapaleniem wątroby aktywność enzymów wątrobowych w osoczu może być również podwyższona [29]. Podstawą leczenia, podobnie jak w innych stadiach ALD, jest całkowita abstynencja, ale z uwagi na ryzyko niedożywienia, istotna jest również odpowiednia wartość energetyczna diety i podaż białka, uzupełnienie niedoborów witamin, składników mineralnych oraz wyrównanie zaburzeń gospodarki wodno-elektrolitowej [4, 30]. W rozwoju zapalenia wątroby istotny udział ma aldehyd octowy, pośredni produkt przemiany etanolu, oraz związki powstałe między nim a białkami (np. kolagenem) powodujące uszkodzenie narządu w wyniku stymulacji odpowiedzi immunologicznej [31, 32]. W największym jednak stopniu do powstania zapalenia przyczyniają się wolne rodniki i cytokiny prozapalne wytwarzane w wyniku aktywacji komórek Kupffera oraz indukcji cytochromu CYP2E1 odpowiedzialnego za przemiany etanolu w wątrobie [33]. Ponadto następuje aktywacja czynnika jądrowego NF- κ B, co z kolei zwiększa produkcję czynnika martwicy nowotworu α (TNF- α) i tym samym również przyczynia się do uszkodzenia wątroby [34]. Dlatego w tym stadium ALD można, jeśli nie ma przeciwwskazań, stosować leczenie kortykosteroidami, które mają działanie przeciwzapalne, czy substancjami hamującymi syntezę cytokin, np. pentoksifyliną ograniczającą produkcję TNF- α [4].

We wspomnianym już badaniu Songa i wsp. [28] stwierdzono, że w grupie zwierząt otrzymujących jednocześnie alkohol etylowy i sylimarynę poziom

of the nuclear factor NF- κ B and interleukin-6 (IL-6) in rat livers. The authors observed that in the groups receiving higher silymarin doses, the expression of these parameters was significantly lower than in the group of rats receiving only ethanol. On this basis, the authors concluded that silymarin reduces the production of pro inflammatory cytokines through the inhibition of NF- κ B factor thus reducing the inflammatory state [26]. These results are similar to that of another study in which the influence of orally administered silymarin was described on mice with damaged livers subject to stressful conditions for several hours [35]. This experiment demonstrated that silymarin significantly reduces the expression of pro inflammatory factors (including IL-6 and TNF- α), while it may be an effective means of inhibiting inflammatory reaction in stressful conditions. The literature also contains study results that confirm the protective action of silymarin on the liver in conditions affected by various toxic factors like carbon tetrachloride [36] or ketoprofen, a chemical compound in the nonsteroidal anti-inflammatory group of medications, which also have a hepatotoxic effect [37]. It ought to be emphasised that these substances lead to liver damage through the induction of excessive reactive oxygen species production, and ethanol and its metabolised forms harm the liver in similar fashion.

Randomised studies confirm the safety of silymarin treatment in the standard recommended dose of 420 mg per day for patients with acute hepatitis of various aetiologies [38]. The authors did not note any adverse symptoms among patients receiving silymarin, while there was an improvement noted in the symptoms of hepatitis [38]. It is however always necessary to consider the possible adverse effects arising from allergic reactions to the ingredients. An assessment of the effectiveness of silymarin treatment of patients with alcoholic hepatitis is not possible due to the lack of appropriate studies. It can only be suspected that in these patients silymarin to a certain extent inhibits the intensity of inflammation in the organism resulting from long term drinking. The concurrent increase in risk of malnourishment at this stage may be a factor hampering the regeneration of hepatocytes, which suggests that the priority is to even out the existing nutritional deficit.

TNF- α w wątrobie był istotnie niższy niż w grupie otrzymującej tylko alkohol etylowy, ale wyższy niż w grupie kontrolnej bez etanolu i sylimaryny. Według autorów świadczy to o hamowaniu przez sylimarynę syntezy TNF- α pobudzanej przez etanol. Zhang i wsp. [26] analizowali wpływ stosowania różnych dawek sylimaryny m.in. na ekspresję czynnika jądrowego NF- κ B oraz interleukiny-6 (IL-6) w wątrobie szczurów. Zaobserwowali, że w grupach, którym podawano wyższe dawki sylimaryny, ekspresja tych parametrów była istotnie niższa niż w grupie szczurów otrzymujących tylko alkohol etylowy. Na tej podstawie autorzy wnioskowali, że sylimaryna poprzez hamowanie ekspresji czynnika NF- κ B zmniejsza produkcję cytokin prozapalnych i tym samym zmniejsza stan zapalny [26]. Wyniki te są podobne do wyników innego badania, w którym u myszy określono wpływ doustnego podawania sylimaryny na uszkodzenie wątroby w warunkach utrzymywanego kilkugodzinnego stresu [35]. W tym doświadczeniu wykazano, że sylimaryna znacząco zmniejszyła ekspresję czynników prozapalnych (m.in. IL-6 i TNF- α), może być zatem skutecznym środkiem hamującym odpowiedź zapalną w warunkach stresu. W literaturze dostępne są również wyniki badań, które potwierdzają ochronne działanie sylimaryny na wątrobę w warunkach narażenia na różne czynniki toksyczne, np. czterochlorek węgla [36] czy ketoprofen – związek chemiczny z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych, także o działaniu hepatotoksycznym [37]. Należy podkreślić, że te substancje prowadzą do uszkodzeń wątroby poprzez indukcję wytwarzania nadmiernych ilości reaktywnych form tlenu, a etanol i produkty jego przemian uszkadzają wątrobę w podobny sposób.

Badania randomizowane potwierdzają bezpieczeństwo stosowania sylimaryny w standardowo zalecanych dawkach (420 mg/dobę) u pacjentów z ostrym stanem zapalnym wątroby o różnej etiologii [38]. Autorzy nie odnotowali żadnych niepożądanych objawów u pacjentów przyjmujących sylimarynę, natomiast odnotowano poprawę klinicznych objawów zapalenia wątroby [38]. Należy jednak zawsze pamiętać o możliwych działaniach niepożądanych wynikających z uczulenia na składnik. Ocena skuteczności stosowania sylimaryny u pacjentów z alkoholowym zapaleniem wątroby nie jest możliwa ze względu na brak odpowiednich badań. Można jedynie podejrzewać, że również u tych pacjentów w pewnym stopniu hamuje nasilenie stanu zapalnego w organizmie wynikające z długotrwałego spożywania napojów alkoholowych. Jednocześnie zwiększone ryzyko nie-

Silymarin extract treatment in alcoholic liver fibrosis and cirrhosis

The last, most severe stage of ALD is cirrhosis, which is a potential risk to life; it develops in 40% of those who continue to consume alcohol despite diagnosis of fatty liver and alcoholic hepatitis [39]. At this stage there is a fibrosis of liver parenchyma caused by the replacement of hepatocytes by connective tissue fibres, which disrupts the flow of blood through the organ and disturbs its normal functioning. Cirrhosis is diagnosed on the basis of biopsy or fibroscan or fibrotest non-invasive tests and additional lab tests [13]. According to some authors, even the advanced state of liver fibrosis may be reversed if provided the harming factor is eliminated [40]. However, cirrhosis is a direct threat to life due to organ damage, and is also one of the risk factors for the development of hepatocellular carcinoma [41]. At this stage of ALD, the basic treatment is also total abstinence. In the majority patients who did not consume alcohol for 3 months, a significant improvement in liver function was noted [42]. Patients with cirrhosis are at risk of nutritional deficiency, which contributes to deterioration of life quality, increases the risk of infection and associated complications and contributes therefore to frequent hospitalisations [43]. An appropriate supply of protein is a significant factor and it is recommended that this supply is 1.2-1.5 g/kg of ideal body weight per 24 hrs to insure the correct nitrogen balance [44]. Supplements of vitamins A, D, E and K and group B as well as zinc and magnesium are recommended [45].

The effects of silymarin extract treatment on this group of patients have been the object of a number of studies. Lucena *et al.* [46] observed a group with alcohol cirrhosis who received a daily dose 450 mg of silymarin extract for 6 months (150 mg three times per day) and noted an insignificant rise in the concentration of glutathione (GSH) in plasma, with a simultaneous reduction in the concentration of MDA and procollagen III amino-terminal peptide, which is one of the markers of liver scarring process. A statistically significant difference between this group and the control group not receiving silymarin was noted. The authors underline that the silymarin was well tolerated and even though beneficial changes were noted in the patients' blood (reduction in concentration of MDA and procollagen III

dożywienia w tym stadium może być czynnikiem utrudniającym regenerację hepatocytów, co sugeruje, że w pierwszej kolejności należałoby przede wszystkim wyrównać istniejące niedobory żywieniowe.

Stosowanie ekstraktu sylimaryny w alkoholowym włóknieniu i marskości wątroby

Ostatnim, najcięższym stadium ALD jest marskość wątroby, która stanowi potencjalne zagrożenie życia; dochodzi do niej u ok. 40% osób kontynuujących spożywanie alkoholu mimo stwierdzenia stłuszczenia i alkoholowego zapalenia wątroby [39]. W tym stadium następuje włóknienie mięszu wątroby spowodowane zastępowaniem hepatocytów włóknami tkanki łącznej, co zaburza przepływ krwi przez narząd i zakłóca jego prawidłowe funkcjonowanie. Marskość wątroby diagnozuje się na podstawie biopsji lub badań nieinwazyjnych (Fibroscan, Fibrotest) oraz dodatkowych badań laboratoryjnych [13]. Według niektórych autorów nawet zaawansowany proces włóknienia wątroby może być odwracalny, jeśli wyeliminowany zostanie czynnik uszkadzający [40]. Natomiast marskość wątroby stanowi bezpośrednie zagrożenie życia z powodu powikłań narządowych, jest także jednym z czynników ryzyka rozwoju raka wątrobowokomórkowego [41]. W tym stadium ALD podstawą leczenia jest również abstynencja. U większości pacjentów, którzy nie spożywali alkoholu, po 3 miesiącach obserwowano znaczącą poprawę funkcji wątroby [42]. Pacjenci z marskością wątroby narażeni są na niedobory składników odżywczych, co znacząco wpływa na pogorszenie jakości ich życia, wzrost ryzyka infekcji i związanych z nimi powikłań, a tym samym przyczynia się do częstszych hospitalizacji [43]. Istotna jest odpowiednia podaż białka, przy czym zaleca się, aby podaż tego składnika wynosiła 1,2–1,5 g/kg należnej m.c./dobę, zapewnia to bowiem właściwy bilans azotowy [44]. Wskazana jest również suplementacja witaminami A, D, E i K oraz witaminami z grupy B, a także cynkiem i magnezem [45].

Efekty zastosowania ekstraktu sylimaryny w tej grupie pacjentów były przedmiotem kilku badań. Lucena i wsp. [46] zaobserwowali u osób z alkoholową marskością wątroby, które przez 6 miesięcy przyjmowały ekstrakt sylimaryny w dawce 450 mg/dobę (trzy razy po 150 mg), nieznaczny wzrost stężenia glutationu (GSH) w osoczu, przy jednoczesnym zmniejszeniu stężenia MDA i aminokońcowego propeptydu prokolagenu typu III, będącego jednym z markerów procesów włóknienia wątroby. Stwierdzono statystycznie istotne różnice między tą

amino-terminal peptide) the results of liver tests remained unchanged [46]. It ought also to be underlined that a limitation of this study was the fact that it was carried out on a relatively small patient sample.

In the randomised prospective studies conducted among patients with alcohol cirrhosis, who ingested 420 mg of silymarin for two years (140 mg 3 times per day), a lower mortality rate was demonstrated among the silymarin users group than in the placebo group. Furthermore, the authors did not note any side effects of silymarin preparation treatment [47]. In similar studies conducted by Pares *et al.* [48], the survival of patients with alcohol cirrhosis who received 450 mg of silymarin daily (150 mg 3 times per day) was however similar to that of the placebo group. In this study, no significant effect of silymarin treatment was noted on the course of cirrhosis in the subject patients. The authors note a reduction in the frequency of haemorrhage from the upper gastrointestinal tract in the silymarin group, but the differences did not reach statistical significance. This study also noted no side effects during silymarin treatment [48].

The beneficial effects of silymarin extract treatment were noted in animal studies. Lieber *et al.*'s experiment [49] conducted over 3 years on a group of 12 baboons demonstrated that in 6 individuals who received a balanced diet and ethyl alcohol there was an increase in plasma concentration of 4-hydroxynonenal, one of the oxidative stress markers, as well as the activity of ALT and the concentration of lipids and type I collagen in liver. Morphological changes were noted – cirrhosis in two individuals and the formation of fibrous septa in the liver in two and in two more the early stage of cirrhosis characterised by fibrosis of connective tissue close to the central vein of hepatic lobule. In the group that received ethanol as well as silymarin extract, one individual was found to have cirrhosis, one liver fibrous septa and two by fibrosis of connective tissue close to the central vein of hepatic lobule and in the remainder no morphological changes were noted. The researchers concluded that silymarin inhibits the development of liver fibrosis caused by ethyl alcohol consumption [49]. These results are in accordance with those of most recent studies by Chaphalkar *et al.* [50] carried out with the aid of the animal damaged liver model in a group of rats receiving

grupą a grupą kontrolną nieprzyjmującą sylimaryny. Autorzy podkreślają, że sylimaryna była dobrze tolerowana, ale choć odnotowano korzystne zmiany we krwi pacjentów (zmniejszenie stężenia MDA i aminokońcowego propeptydu prokolagenu typu III), to wyniki testów wątrobowych pozostały bez zmian [46]. Należy także podkreślić, że ograniczeniem tego badania było to, że zostało przeprowadzone z udziałem stosunkowo małej liczby pacjentów.

W prospektywnych badaniach z randomizacją przeprowadzonych wśród pacjentów z alkoholową marskością wątroby, którzy przez 2 lata stosowali dziennie 420 mg sylimaryny (3 razy po 140 mg), wykazano mniejszą śmiertelność u osób przyjmujących sylimarynę w porównaniu z otrzymującymi placebo. Ponadto autorzy nie obserwowali skutków ubocznych stosowania preparatu z sylimaryną [47]. W podobnych badaniach prowadzonych przez Paresa i wsp. [48] przeżywalność pacjentów z alkoholową marskością wątroby otrzymujących 450 mg sylimaryny dziennie (3 razy po 150 mg) była jednak podobna do przeżywalności pacjentów z grupy otrzymującej placebo. Nie stwierdzono, aby stosowanie sylimaryny miało istotny wpływ na kliniczny przebieg marskości wątroby u tych pacjentów. Autorzy zaobserwowali co prawda zmniejszenie częstości krwawień z górnego odcinka przewodu pokarmowego w grupie osób stosujących sylimarynę, ale różnice nie osiągnęły istotności statystycznej. Nie odnotowano również efektów ubocznych w czasie stosowania sylimaryny [48].

Korzystny efekt stosowania ekstraktu sylimaryny odnotowano w doświadczeniach prowadzonych na zwierzętach. W trwającym 3 lata badaniu Liebera i wsp. [49] na grupie 12 pawianów wykazano, że u 6 osobników, którym podawano zbilansowaną dietę i alkohol etylowy, doszło do zwiększenia w osoczu stężenia 4-hydroksynonenalu, jednego z markerów stresu oksydacyjnego, oraz aktywności ALT, a także stężenia lipidów i kolagenu typu I w wątrobie. Zaobserwowano zmiany morfologiczne – u dwóch osobników marskość wątroby, u dwóch kolejnych tworzenie w wątrobie przegród łącznotkankowych, a u dwóch – wczesny etap rozwoju marskości wątroby charakteryzujący się zwłóknieniem tkanki łącznej w strefie wokół żyły centralnej zrazika. W grupie, która otrzymywała alkohol etylowy oraz ekstrakt sylimaryny, u jednego osobnika stwierdzono marskość wątroby, u jednego występowały przegród łącznotkankowych w wątrobie, u dwóch – włóknienie tkanki łącznej w strefie około żyły centralnej zrazika, a u pozostałych – brak zmian morfologicznych. Badacze wnioskowali, że

for 30 days 25 mg/kg body weight of silymarin daily plus 70% ethyl alcohol at a dose of 10 mg/kg body weight per day. In this group there was noted a significantly lower value of ALT and AST activity and alkaline phosphatase in the plasma compared to the group that received only 70% ethanol (10 ml/kg body weight per day). Furthermore, histopathological data showed hepatocyte damage with numerous areas of necrosis in the group of rats receiving ethanol while in the animals that did receive silymarin together with ethanol, the picture of liver parenchyma was correct with only minor inflammatory changes in a few hepatocytes without characteristics of necrosis [50]. Lieber *et al.* [49] indicate that the cause of the differing results of various studies may be the application of silymarin in too small doses. It is worth underlining that in experiments conducted on animals, silymarin was administered in doses from 20 mg/kg body weight [28] to 200 mg/kg body weight [26], which in an adult human male weighing 70 kg is equal to 14 to 140 g of silymarin. As Bhattacharya [51] shows, silymarin is well tolerated by patients and does not have side effects at daily doses of 200 to 900 mg, while doses above 1.5 g per day may have a laxative effect due to increased biliary secretion. Therefore, it is not possible to apply the same doses in people as in animals as this would be at least 10 times the dosage that could lead to undesirable effects. Persons with alcoholic liver damage took part in experiments in which the influence of a daily dose of 420-450 mg of silymarin were analysed. This dosage could be doubled safely and could result in more noticeable effects, though this would require taking 6 tablets of the preparation daily. Another significant factor is time of silymarin extract treatment, as in human studies its effectiveness was assessed over a few years, which may suggest that only regular ingestion of fixed doses brings the required benefits. Furthermore, it is not without significance that the elements of silymarin show low solubility in water and fats and its absorption in the intestines is limited [52].

Perhaps silymarin bioavailability is also influenced by the patient's nutritional status, which means that improvement would be possible if the use of silymarin extract was accompanied by a properly balanced diet providing other antioxidant elements. Unfortunately, the authors of the above-mentioned human studies did not

sylimaryna hamuje rozwój włóknienia wątroby wywołanego przez spożywanie alkoholu etylowego [49]. Wyniki te są zgodne z wynikami najnowszych badań Chaphalkara i wsp. [50], prowadzonych z wykorzystaniem zwierzęcego modelu alkoholowego uszkodzenia wątroby w grupie szczurów otrzymujących przez 30 dni sylimarynę w dawce 25 mg/kg m.c./dobę oraz 70-procentowy alkohol etylowy w dawce 10 mg/kg m.c./dobę. W tej grupie stwierdzono istotnie niższe wartości aktywności ALT, AST i fosfatazy alkalicznej w osoczu w porównaniu z grupą, która otrzymywała wyłącznie 70-procentowy etanol (dawka 10 ml/kg m.c./dobę). Ponadto, badania histopatologiczne wykazały, że w grupie szczurów otrzymujących alkohol etylowy obserwowano uszkodzenia hepatocytów z licznymi ogniskami o charakterze martwicy, natomiast u tych zwierząt, które otrzymywały oprócz etanolu również sylimarynę, obraz mięszu wątroby był prawidłowy, a tylko w kilku hepatocytach stwierdzono niewielkie zmiany ogniskowe, ale bez cech martwicy [50]. Lieber i wsp. [49] zaznaczają, że przyczyną odmiennych wyników uzyskiwanych w różnych badaniach może być podawanie sylimaryny w zbyt małych ilościach. Warto podkreślić, że w doświadczeniach prowadzonych z wykorzystaniem zwierząt podawano sylimarynę w dawkach od 20 mg/kg m.c. [28] do 200 mg/kg m.c. [26], co u dorosłego mężczyzny ważącego 70 kg jest równoważne z przyjęciem od 14 g do 140 g sylimaryny. Jak podaje Bhattacharya [51], sylimaryna jest dobrze tolerowana przez pacjentów i nie powoduje skutków ubocznych przy stosowaniu dawek od 200 do 900 mg/dobę, natomiast dawki powyżej 1,5 g/dobę mogą mieć działanie przeczyszczające ze względu na wzmożone wydzielanie żółci. Nie jest zatem możliwe stosowanie u ludzi takich samych dawek jak u zwierząt, gdyż byłyby co najmniej 10-krotnie większe od dawek, które mogą wykazywać działanie niepożądane. W doświadczeniach z udziałem osób z alkoholowym uszkodzeniem wątroby analizowano wpływ przyjmowania 420–450 mg sylimaryny dziennie. Podwojenie tej dawki nadal byłoby bezpieczne i być może spowodowałoby bardziej zauważalne efekty, ale wymagałoby przyjmowania przez pacjentów 6 tabletek preparatu dziennie. Innym czynnikiem o istotnym znaczeniu jest czas stosowania sylimaryny, gdyż w badaniach z udziałem ludzi oceniano skuteczność jej stosowania przez kilka lat, co może sugerować, że tylko regularne przyjmowanie stałych dawek przynosi oczekiwane korzyści. Ponadto nie bez znaczenia jest fakt, że składniki sylimaryny

provide nutritional status assessments or the characteristics of patients' diets. In addition when one of the key components of the silymarin complex, silibina, is metabolised, its metabolites are rapidly excreted into bile and urine, diminishing the therapeutic efficacy of the entire complex [52]. However, this does not close the possibility of using silymarin in patients, as work on the production of new silymarin derivatives of better bioavailability with chemical and enzymatic methods is ongoing [52].

It is worth mentioning that, although statistics on the proportion of young people with alcoholic liver disease are not available in Poland, given the prevalence of excessive drinking in this population group, it may be expected that in the coming years the problem will increase. In a survey conducted in 2015, 46% of girls aged 16 declared they drank and 11% said they had been drunk in the last 30 days prior to the study [53]. This is particularly disturbing as among the wide range of adverse effects of ethanol on the body are the teratogenic effects manifested by foetal damage and the development of foetal alcohol syndrome in children of women who consume alcohol during pregnancy [54, 55]. Drinking alcoholic beverages during pregnancy is strictly forbidden, but it is often the case that women who are unaware of pregnancy continue to drink. Moreover, results of Polish surveys conducted on pregnant women showed that although 48% of respondents declared they excluded alcoholic beverages from their diet once pregnant, 52% continued to consume alcohol at different frequencies, with most claiming they drank only sporadically [56]. Experts have pointed out that the frequency of alcohol consumption among pregnant women was probably underestimated, as the lack of public acceptance causes a reluctance to reveal the actual amount of alcohol consumed [57].

Iranian researchers, applying the animal model examined the effect of silymarin treatment and ethyl alcohol consumption during pregnancy [58]. On group of female pregnant rats received a diet of which 35% of energy values were from ethanol and the second group that received the same plus 200 mg/kg body weight silymarin dose with a control group that received distilled water. The results gained on the 1st, 7th, 14th and 21st days of pregnancy indicate a normalisation of liver enzyme levels in the plasma of the pregnant female group receiving both alcohol and silymarin [58]. These experiments

wykazują niską rozpuszczalność w wodzie i tłuszczach, a ich resorpcja w jelitach jest ograniczona [52].

Być może na biodostępność sylimaryny ma też wpływ stan odżywienia pacjenta, co oznacza, że osiągnięcie poprawy byłoby możliwe, jeśli stosowaniu ekstraktu sylimaryny towarzyszyłaby odpowiednio zbilansowana dieta dostarczająca innych składników o działaniu antyoksydacyjnym. Niestety autorzy przedstawionych powyżej badań z udziałem ludzi nie przedstawili oceny stanu odżywienia czy charakterystyki sposobu żywienia pacjentów. Dodatkowo sylibina, jedna z kluczowych składowych kompleksu sylimaryny, ulega przemianom, a jej metabolity są szybko wydalane z żółcią i moczem, co wpływa na obniżenie skuteczności terapeutycznej całego kompleksu [52]. Nie zamyka to jednak możliwości stosowania sylimaryny u pacjentów, gdyż trwają prace nad pozyskaniem metodami chemicznymi i enzymatycznymi nowych pochodnych sylimaryny o lepszej biodostępności [52].

Warto nadmienić, że choć w Polsce nie są prowadzone statystyki dotyczące odsetka młodych osób z ALD, to biorąc pod uwagę rozpowszechnienie picia nadmiernych ilości napojów alkoholowych w tej grupie populacyjnej, można oczekiwać, że w najbliższych latach problem będzie narastać. W przeprowadzonych w 2015 r. badaniach ankietowych 46% dziewcząt w wieku 16 lat deklarowało, że pije alkohol, a 11% – że upiły się w ciągu ostatnich 30 dni przed badaniem [53]. Jest to szczególnie niepokojące, gdyż wśród szerokiego spektrum negatywnego oddziaływania alkoholu etylowego na organizm wymienia się działanie teratogenne, które manifestuje się uszkodzeniami płodu i rozwojem alkoholowego zespołu płodowego u dzieci kobiet spożywających alkohol w czasie ciąży [54, 55]. Picie napojów alkoholowych w okresie ciąży jest bezwzględnie zakazane, ale często zdarza się, że kobiety, nie wiedząc o ciąży, nie rezygnują z ich spożywania. Co więcej, wyniki polskich badań ankietowych przeprowadzonych w grupie ciężarnych kobiet wykazały, że choć 48% ankietowanych deklarowało wykluczenie napojów alkoholowych z diety po zajściu w ciążę, to 52% nadal spożywało alkohol z różną częstością, przy czym większość twierdziła, że pije wyłącznie sporadycznie [56]. Eksperci zwracali uwagę, że częstość spożywania napojów alkoholowych przez ciężarne była prawdopodobnie niedoszacowana, gdyż brak akceptacji ze strony społeczeństwa powoduje niechęć do ujawniania faktycznych ilości konsumowanego alkoholu [57].

Irańscy badacze, wykorzystując model zwierzęcy, sprawdzili efekty stosowania sylimaryny i picia alko-

by Iranian scientists may arouse ethical reservations due to no alcohol being recommended in pregnancy as already mentioned. However, as suggested by the research, systematic silymarin treatment for women of reproductive age may counteract the negative effects of occasional alcohol consumption. Meanwhile, it ought to be once again emphasised that this is no encouragement to consume alcohol during pregnancy.

■ SUMMARY

Alcohol abuse is a serious problem in terms of public health, which encourages the search for effective measures to support the treatment process in which nutritional procedure has a key influence not only on patients' quality of life but also their survival. For many years, scientists have been studying the effects of silymarin treatment on patients with various liver conditions. It ought to be added that there is a lot more research being carried out among people with non-alcoholic liver conditions like non-alcoholic fatty liver [59-61], while studies are less frequent on patients with alcoholic liver disease due to the specifics of the illness. Additionally, apart from the small number of studies, what research is conducted is often of a low methodological standard, so the presented results on the benefits of milk thistle are not sufficiently credible. Therefore, there is an urgent need to conduct well-planned randomised clinical studies in

holu etylowego w ciąży [58]. W jednej grupie ciężarne samice szczurów otrzymywały dietę, w której 35% wartości energetycznej pochodziło z etanolu, a drugiej grupie oprócz alkoholu etylowego podawano też sylimarynę w dawce 200 mg/kg m.c.; grupa kontrolna dostawała wodę destylowaną. Uzyskane w 1., 7., 14. i 21. dniu ciąży wyniki wskazują na normalizację poziomu enzymów wątrobowych w osoczu w grupie ciężarnych samic otrzymujących jednocześnie alkohol etylowy i sylimarynę [58]. Doświadczenie irańskich naukowców może wzbudzać wątpliwości natury etycznej, ponieważ, jak już wspomniano, w ciąży żadna ilość alkoholu nie jest wskazana. Jak wynika z ich badań, systematyczne stosowanie sylimaryny mogłoby u kobiet w okresie rozrodczym zniwelować negatywne efekty wywołane przez okazjonalne spożywanie napojów alkoholowych. Aczkolwiek należy tu jeszcze raz podkreślić, że nie jest to zachęta do spożywania napojów alkoholowych w czasie ciąży.

■ PODSUMOWANIE

Nadużywanie alkoholu stanowi poważny problem z zakresu zdrowia publicznego, co skłania do poszukiwania skutecznych środków wspomagających proces leczenia, w którym postępowanie żywieniowe ma kluczowy wpływ nie tylko na jakość życia pacjentów, lecz także ich przeżywalność. Od wielu lat naukowcy prowadzą badania dotyczące efektów stosowania sylimaryny u pacjentów z różnymi schorzeniami wątroby. Należy dodać, że dużo więcej

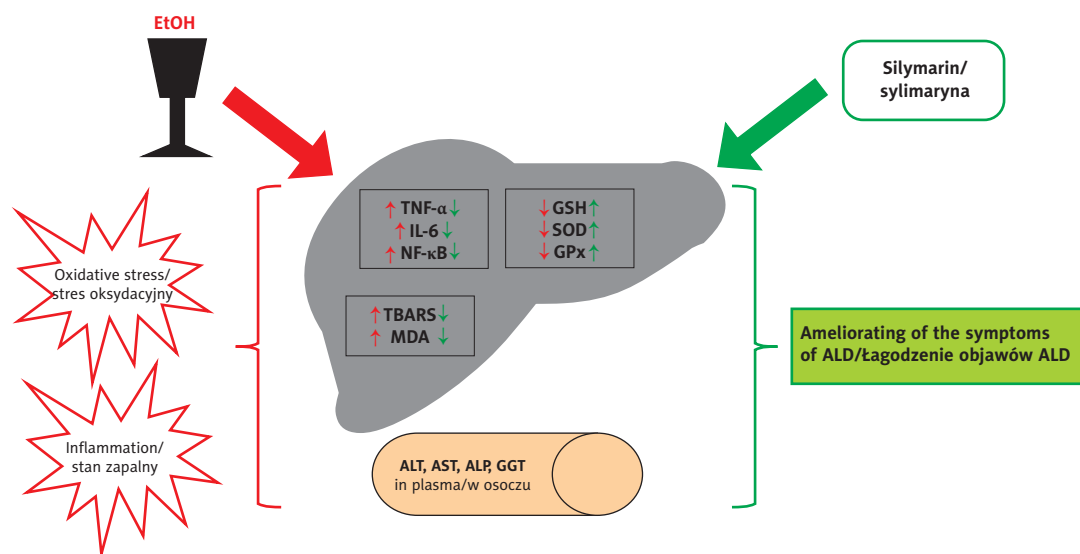


Figure 1. The effect of using silymarin extract from seeds of milk thistle in alcoholic liver disease (ALD)
Rycina 1. Efekty stosowania ekstraktu sylimaryny pozyskanego z nasion ostropestu plamistego w alkoholowej chorobie wątroby (ALD)

order to clearly define the effects of milk thistle treatment on this patient group. Antioxidant and anti-inflammatory substances may reduce liver damage and so ameliorate the symptoms of ALD [62] as presented in Figure 1.

Despite the encouraging results gained in animal model studies there are still far too few high quality studies conducted on people, which would allow unambiguous conclusions on the efficacy of silymarin treatment. Animal laboratory studies apply various research models and research conditions with ethanol applied in various concentrations for different periods of time as well as various doses of silymarin – all of which may explain the discrepancies of gained results. Limitations in the bioavailability of silymarin may also be the cause of its minor therapeutic efficacy, which ought to suggest the search for better-absorbed silymarin derivatives. Analysis of the available literature can however lead to the conclusion that ALD patients may gain certain benefits from silymarin treatment especially as all studies confirm that its application is safe.

badan jest prowadzonych wśród osób z niealkoholowym uszkodzeniem wątroby, np. niealkoholowym stłuszczeniem wątroby [59–61], niż u pacjentów z ALD, z uwagi na specyfikę schorzenia. Dodatkowo, oprócz niewielkiej liczby badań często są to badania o niskiej jakości metodologicznej, zatem wykazywane w nich korzyści ze stosowania ostropestu nie są dostatecznie wiarygodne. Tym samym istnieje pilna potrzeba prowadzenia dobrze zaplanowanych klinicznych badań z randomizacją, aby w jednoznaczny sposób określić efekty stosowania ostropestu plamistego w tej grupie pacjentów. Substancje o charakterze antyoksydacyjnym i przeciwzapalnym mogą zmniejszyć uszkodzenia wątroby, łagodząc tym samym objawy ALD [62], co obrazuje rycina 1.

Pomimo obiecujących wyników uzyskanych w doświadczeniach realizowanych w modelach zwierzęcych nadal niewiele jest dobrej jakości badań przeprowadzonych wśród ludzi, które umożliwiłyby jednoznaczne wnioskowanie o skuteczności przyjmowania sylimaryny. W doświadczeniach z udziałem zwierząt laboratoryjnych stosowano różne modele badawcze oraz warunki prowadzenia badania, podawano etanol w różnych stężeniach, przez różny czas, podawano też różne dawki sylimaryny – wszystko to przypuszczalnie tłumaczy rozbieżności w uzyskanych wynikach. Ograniczona biodostępność sylimaryny może być również przyczyną niewielkiej jej skuteczności terapeutycznej, co skłania do poszukiwania lepiej przyswajalnych pochodnych sylimaryny. Analizując dostępne piśmiennictwo, można jednak stwierdzić, że pacjenci z ALD mogą odnieść pewne korzyści ze stosowania ekstraktu sylimaryny, zwłaszcza że wszystkie badania potwierdzają bezpieczeństwo jej stosowania.

Conflict of interest/Konflikt interesów

None declared./Nie występuje.

Financial support/Finansowanie

None declared./Nie występuje.

Ethics/Etyka

The work described in this article has been carried out in accordance with the Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) on medical research involving human subjects, EU Directive (210/63/EU) on protection of animals used for scientific purposes, Uniform Requirements for manuscripts submitted to biomedical journals and the ethical principles defined in the Farmington Consensus of 1997.

Treści przedstawione w pracy są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej odnoszącymi się do badań z udziałem ludzi, dyrektywami EU dotyczącymi ochrony zwierząt używanych do celów naukowych, ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych oraz z zasadami etycznymi określonymi w Porozumieniu z Farmington w 1997 roku.

References/Piśmiennictwo

1. Miller AM, Horiguchi N, Jeong WI, Radaeva S, Gao B. Molecular mechanisms of alcoholic liver disease: Innate immunity and cytokines. *Alcohol Clin Exp Res* 2011; 5: 787-93.
2. McClain CJ, Barve SS, Barve A, Marsano L. Alcoholic liver disease and malnutrition. *Alcohol Clin Exp Res* 2011; 5: 815-20.
3. Pessione F, Ramond MJ, Peters L, Pham BN, Batel P, Rueff B, et al. Five-year survival predictive factors in patients with excessive alcohol intake and cirrhosis. Effect of alcoholic hepatitis, smoking and abstinence. *Liver Int* 2003; 23: 45-53.
4. Jaurigue MM, Cappell MS. Therapy for alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2014; 9: 2143-58.
5. Suk KT, Kim MY, Baik SK. Alcoholic liver disease: treatment. *World J Gastroenterol* 2014; 36: 12934-44.
6. Strader DB, Bacon BR, Lindsay KL, La Brecque DR, Morgan T, Wright EC, et al. Use of complementary and alternative medicine in patients with liver disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2391-7.
7. Lee JI, Hsu BH, Wu D, Barrett JS. Separation and characterization of silybin, isosilybin, silydianin and silychristin in milk thistle extract by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2006; 1-2: 57-68.
8. Köksal E, Gülçin I, Beyza S, Sarikaya O, Bursal E. In vitro antioxidant activity of silymarin. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2009; 2: 395-405.
9. Morishima C, Shuhart MC, Wang CC, Paschal DM, Apodaca MC, Liu Y, et al. Silymarin inhibits in vitro T-cell proliferation and cytokine production in hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 2010; 2: 671-81.
10. Wilasrusmee C, Siddiqui J, Bruch D, Wilasrusmee S, Kittur S, Kittur DS. In vitro immunomodulatory effects of herbal products. *Am Surg* 2002; 10: 860-4.
11. Trappoliere M, Caligiuri A, Schmid M, Bertolani C, Failli P, Vizzutti F, et al. Silybin, a component of silymarin, exerts anti-inflammatory and anti-fibrogenic effects on human hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2009; 50: 1102-11.
12. Pradhan SC, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Ind J Med Res* 2006; 124: 491-504.
13. Mann RE, Smart GR, Govoni R. The epidemiology of alcoholic liver disease. *Alcohol Res Health* 2003; 3: 209-19.
14. Vermeulen NPE, Bessems JGM, Van De Straat R. Molecular aspects of paracetamol-induced hepatotoxicity and its mechanism-based prevention. *Drug Metab Rev* 1992; 3: 367-407.
15. Oduola T, Adeosun OG, Oduola TA, Agbaje NR, Raheem ZA. Drinking patterns: biochemical and haematological findings in alcohol consumers in Ile-Ife, Nigeria. *Afr J Biotechnol* 2005; 11: 1304-8.
16. Ejilemele AA, Orluwene CG. Biochemical changes in chronic alcoholics in Port Harcourt: the report of a pilot survey. *Niger Postgrad Med J* 2010; 2: 154-9.
17. Das BKL, Lamsal M, Pradhan B, Shakya DR, Bhattarai NR, Baral N. Evaluation of biochemical parameter alteration in alcohol dependence ethnic Nepalese. *Int J Therap Appl* 2014; 18: 1-6.
18. Torkadi PP, Apte IC, Bhute AK. Biochemical evaluation of patients of alcoholic liver disease and non-alcoholic liver disease. *Ind J Clin Biochem* 2014; 29: 79-83.
19. Bruha R, Dvorak K, Petrtyl J. Alcoholic liver disease. *World J Hepatol* 2012; 3: 81-90.
20. Fehér J, Deák G, Müzes G, Láng I, Niederland V, Nékám K, et al. Liver-protective action of Silymarin therapy in chronic alcoholic liver diseases. *Orv Hetil* 1989; 51: 2723-7.
21. Müzes G, Deák G, Láng I, Nékám K, Niederland V, Fehér J. Effect of Silymarin (Legalon) therapy on the antioxidant defense mechanism and lipid peroxidation in alcoholic liver disease (double blind protocol). *Orv Hetil* 1990; 16: 863-6.
22. Deák G, Müzes G, Láng I, Niederland V, Nékám K, Gonzalez-Cabello R, et al. Immunomodulator effect of Silymarin therapy in chronic alcoholic liver diseases. *Orv Hetil* 1990; 24: 1291-2.

23. Rambaldi A, Jacobs BP, Gluud C. Milk thistle for alcoholic and/or hepatitis B or C virus liver diseases. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 4: CD003620.
24. Nanda V, Gupta V, Sharma SN, Pasricha A, Karmakar AK, Patel A, et al. Effect of Liverubin™ on hepatic biochemical profile in patients of alcoholic liver disease: a retrospective study. *Minerva Med* 2014; 6 Suppl 2: 1-8.
25. Belcaro G, Hu S, Gizzi G, Corsi M, Dugall M, Hu S, et al. Liverubin (standardized silymarin) in the supplementary management of functional, temporary hepatic damage. A pilot, registry, study. *Minerva Med* 2014; 6 Suppl 2: 17-25.
26. Zhang W, Hong R, Tian T. Silymarin's protective effects and possible mechanisms on alcoholic fatty liver for rats. *Biomol Ther (Seoul)* 2013; 4: 264-9.
27. Ha HL, Shin HJ, Feitelson MA, Yu DY. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2010; 48: 6035-43.
28. Song Z, Deaciuc I, Song M, Lee DY, Liu Y, Ji X, et al. Silymarin protects against acute ethanol-induced hepatotoxicity in mice. *Alcohol Clin Exp Res* 2006; 30: 407-13.
29. Nyblom H, Berggren U, Balldin J, Olsson R. High AST/ALT ratio may indicate advanced alcoholic liver disease rather than heavy drinking. *Alcohol Alcohol* 2004; 39: 336-9.
30. Rosato V, Abenavoli L, Federico A, Masarone M, Persico M. Pharmacotherapy of alcoholic liver disease in clinical practice. *Int J Clin Pract* 2016; 2: 119-31.
31. Tuma DJ, Casey CA. Dangerous byproducts of alcohol breakdown: Focus on adducts. *Alcohol Res Health* 2003; 27: 285-90.
32. Setshedi M, Wands JR, de la Monte SM. Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease. *Oxid Med Cell Longev* 2010; 3: 178-85.
33. Gao B. Hepatoprotective and anti-inflammatory cytokines in alcoholic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 2: 89-93.
34. Dey A, Cederbaum AI. Alcohol and oxidative liver injury. *Hepatology* 2016; 2: S63-S74.
35. Kim SH, Oh DS, Oh JY, Son TG, Yuk DY, Jung YS. Silymarin prevents restraint stress-induced acute liver injury by ameliorating oxidative stress and reducing inflammatory response. *Molecules* 2016; 4: 443.
36. Mahli A, Koch A, Czech B, Peterburs P, Lechner A, Haunschild J, et al. Hepatoprotective effect of oral application of a silymarin extract in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Clin Phytosci* 2015; 1: 5.
37. Kelany ME, Abdallah MA. Protective effects of combined β -caryophyllene and silymarin against ketoprofen-induced hepatotoxicity in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2016; 7: 739-44.
38. El-Kamary SS, Shardell MD, Abdel-Hamid M, Ismail S, El-Ateek M, Metwally M, et al. A randomized controlled trial to assess the safety and efficacy of silymarin on symptoms, signs and biomarkers of acute hepatitis. *Phytomedicine* 2009; 5: 391-400.
39. Völzke H. Multicausality in fatty liver disease: Is there a rationale to distinguish between alcoholic and non-alcoholic origin? *World J Gastroenterol* 2012; 27: 3492-501.
40. Rockey DC. Current and future anti-fibrotic therapies for chronic liver disease. *Clin Liver Dis* 2008; 12(4): 939-xi.
41. Wang Y, Millonig G, Nair J, Patsenker E, Stickel F, Mueller S, et al. Ethanol-induced cytochrome P4502E1 causes carcinogenic etheno-DNA lesions in alcoholic liver disease. *Hepatology* 2009; 50: 453-61.
42. Singal AK, Charlton MR. Nutrition in alcoholic liver disease. *Clin Liver Dis* 2012; 4: 805-26.
43. O'Shea RS, Dasarathy S, McCullough AJ. Alcoholic liver disease. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 14-32.
44. McClain CJ, Barve SS, Barve A, Marsano L. Alcoholic liver disease and malnutrition. *Alcohol Clin Exp Res* 2011; 35: 815-20.
45. Veldt BJ, Lainé F, Guillygomarc'h A, Lauvin L, Boudjema K, Messner M, et al. Indication of liver transplantation in severe alcoholic liver cirrhosis: quantitative evaluation and optimal timing. *J Hepatol* 2002; 1: 93-8.
46. Lucena MI, Andrade RJ, de la Cruz JP, Rodriguez-Mendizabal M, Blanco E, Sánchez de la Cuesta F, et al. Effects of silymarin MZ-80 on oxidative stress in patients with alcohol-

- ic cirrhosis. Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2002; 1: 2-8.
47. Ferenci P, Dragosics B, Dittirich H. Randomized controlled trial of Silymarin treatment in patients with cirrhosis of liver. *J Hepatol* 1998; 9: 105-13.
 48. Parés A, Planas R, Torres M, Caballería J, Viver JM, Acero D, et al. Effects of silymarin in alcoholic patients with cirrhosis of liver: results of a controlled, double blind, randomized & multicenter trial. *J Hepatol* 1998; 28: 615-21.
 49. Lieber CS, Leo MA, Cao Q, Ren C, DeCarli LM. Silymarin retards the progression of alcohol-induced hepatic fibrosis in baboons. *J Clin Gastroenterol* 2003; 4: 336-9.
 50. Chaphalkar R, Apte KG, Talekar Y, Ojha SK, Nandave M. Antioxidants of *Phyllanthus emblica* L. bark extract provide hepatoprotection against ethanol-induced hepatic damage: A comparison with silymarin. *Oxid Med Cell Longev* 2017; doi: 10.1155/2017/3876040.
 51. Bhattacharya S. Phytotherapeutic properties of milk thistle seeds: An overview. *J Adv Pharm Tech Res* 2011; 1: 69-79.
 52. Theodosiou E, Purchartová K, Stamatis H, Kolisis F, Křen V. Bioavailability of silymarin flavonolignans: drug formulations and biotransformation. *Phytochem Rev* 2014; 13: 1-18.
 53. *Results from the European School Survey Project on Alcohol and Other Drugs. ESPAD Report 2015*. The ESPAD group, Luxembourg, 2016.
 54. Ornoy A, Ergaz Z. Alcohol abuse in pregnant women: effects on the fetus and newborn, mode of action and maternal treatment. *Int J Environ Res Public Health* 2010; 7: 364-79.
 55. Burd L, Blair J, Dropps K. Prenatal alcohol exposure, blood alcohol concentrations and alcohol elimination rates for the mother, fetus and newborn. *J Perinatol* 2012; 9: 652-59.
 56. Wierzejska R, Jarosz M, Sawicki W, Stelmachow J, Siuba M. Antyzdrowotne zachowania kobiet ciężarnych. Tytoń, alkohol, kofeina. *Żyw Człow Metab* 2011; 2: 84-98.
 57. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists Statement N^o. 5. Wpływ alkoholu na przebieg ciąży. Aktualne (2006 r.) stanowisko Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. *Med Prakt Ginekol Położ* 2007; 3: 37-45.
 58. Ahmadi-Ashtiani H, Rastegar H, Javadi L. Using biochemical findings to study the effect of Silymarin on the liver of pregnant rat that consumed ethanol. *Acta Med Iran* 2011; 7: 407-13.
 59. Cacciapuoti F, Scognamiglio A, Palumbo R, Forte R, Cacciapuoti F. Silymarin in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol* 2013; 3: 109-13.
 60. Aller R, Izaola O, Gómez S, Tafur C, González G, Berroa E, et al. Effect of silymarin plus vitamin E in patients with non-alcoholic fatty liver disease. A randomized clinical pilot study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 16: 3118-24.
 61. Famouri F, Salehi MM, Rostampour N, Hashemi E, Shahsanaee A. The effect of silymarin on non-alcoholic fatty liver disease of children. *J Herbmed Pharmacol* 2017; 1: 16-20.
 62. Ghorbani Z, Hajizadeh M, Hekmatdoost A. Dietary supplementation in patients with alcoholic liver disease: a review on current evidence. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2016; 15: 348-60.

