

## • Hepatoprotective and antifibrotic effect of a new silybin-phosphatidylcholine-vitamin E complex in rats

### ABSTRACT

#### BACKGROUND

Silybin, the main active component of silymarin, has been reported to reduce hepatic fibrosis by 30% in bile duct ligated rats, whereas vitamin E alone does not significantly modify liver damage and collagen deposition in chronic liver injury.

#### AIM

The aim of the present study was to evaluate the hepatoprotective and the antifibrotic properties of a new silybin-phosphatidylcholine-vitamin E complex, characterised by elevated oral bioavailability and lipophilicity, on rat hepatic fibrosis induced by dimethylnitrosamine administration and by bile duct ligation.

#### METHODS/RESULTS

The complex was administered by gastric gavage at a dose of 250 and 75 mg/kg (as silybin and vitamin E, respectively). Treatment with the complex was able to prevent the dimethylnitrosamine-induced loss in body and liver weight, as well as to reduce the degree of liver injury, as determined by alanine aminotransferase values and necroinflammatory score. This was associated with reduced hepatic stellate cells proliferation both after 1 and 5 weeks of treatment. Treatment with the complex reduced also hepatic stellate cells activation and collagen deposition. Treatment with dimethylnitrosamine induced an increase in  $\alpha 1(I)$  procollagen, TGF $_{\beta 1}$ , tissue inhibitor of metalloproteinase 1 and metalloproteinase 2 mRNA expression, which were significantly reduced by administration of the complex. In the bile duct ligation model, the administration of the complex was able to reduce hepatic stellate cells proliferation and activation, as well as collagen deposition and  $\alpha 1(I)$  procollagen mRNA expression.

#### CONCLUSIONS

These results suggest that this new silybin-phosphatidylcholine-vitamin E complex could be an interesting drug to be tested in patients with chronic liver disease.

EVIDENCE POINTS

Abstract

## • Effetto epatoprotettivo e antifibrotico di un nuovo complesso silibina-fosfatidilcolina-vitamina E nei ratti

A. Di Sario, E. Bendia,  
S. Taffetani, A. Omenetti,  
C. Candelaresi, M. Marzioni,  
S. De Minicis, A. Benedetti

*Digestive and Liver Disease* 2005;  
37: 869-876

### INTRODUZIONE

La fibrosi epatica rappresenta la risposta del fegato a differenti tipi di insulti cronici e si associa ad elevati tassi di morbilità e mortalità. L'eccessivo accumulo di matrice extracellulare è un processo dinamico e bidirezionale regolato principalmente dalle cellule stellate epatiche (HSC), cellule epatiche non-parenchimali che, a seguito di un insulto acuto o cronico del fegato, vanno incontro ad un processo di trasformazione morfo-funzionale (attivazione) caratterizzato da aumento della proliferazione e della produzione dei vari componenti della matrice extracellulare. La silibina, principale componente attivo del cardo mariano, ha dimostrato, in studi *in vivo* e *in vitro*, un effetto epatoprotettivo.

### OBIETTIVO

Valutare l'effetto epatoprotettivo ed antifibrotico di un nuovo complesso costituito da silibina-fosfatidilcolina-vitamina E (complesso SPV), caratterizzato da elevata biodisponibilità e lipofilità, sulla fibrosi epatica indotta nel ratto mediante somministrazione di dimetilnitrosamina (DMN) o legatura del dotto biliare (BDL).

### MATERIALI E METODI

La fibrosi epatica è stata indotta in 81 ratti maschi Sprague-Dawley (peso 140-150 g) mediante iniezione intraperitoneale di DMN (10 mg/kg) disciolta in soluzione salina e somministrata per 3 giorni consecutivi a settimana per 1 e 5 settimane, o mediante doppia legatura e sezionamento del dotto biliare principale per 4 settimane. Il complesso SPV è stato somministrato mediante sondino gastrico al dosaggio di 250 mg/kg

(silibina) e 75 mg/kg (vitamina E), contemporaneamente alla somministrazione di DMN o alla BDL. Gli animali sono stati divisi nei seguenti gruppi di trattamento: 1) DMN (n=20); 2) DMN + SPV (n=20); 3) BDL (n=7); 4) BDL + SPV (n=7); 5) soluzione salina (0.2 ml/die per via intraperitoneale) (n=10); 6) animali falsamente operati (n=7); 7) SPV (n=10). Durante il sacrificio degli animali è stato effettuato il prelievo dei campioni ematici dalla vena porta per la determinazione dell'alanina-aminotransferasi (ALT), e sono stati prelevati frammenti di tessuto epatico per le valutazioni morfologiche e morfometriche.

### RISULTATI

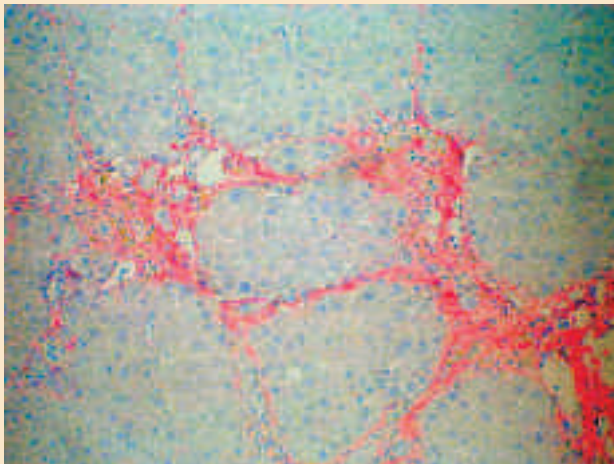
#### Effetti generali del trattamento

La somministrazione orale del complesso SPV ha indotto, al termine dello studio, una significativa riduzione ( $p < 0.01$ ) dei livelli di ALT ( $45 \pm 8$  U/l) e del punteggio necroinfiammatorio ( $3.7 \pm 1.5$ ). Il trattamento con la sola DMN ha invece determinato un significativo aumento ( $p < 0.01$ ) di questi parametri (rispettivamente  $104 \pm 11$  U/l e  $9 \pm 2.2$ ).

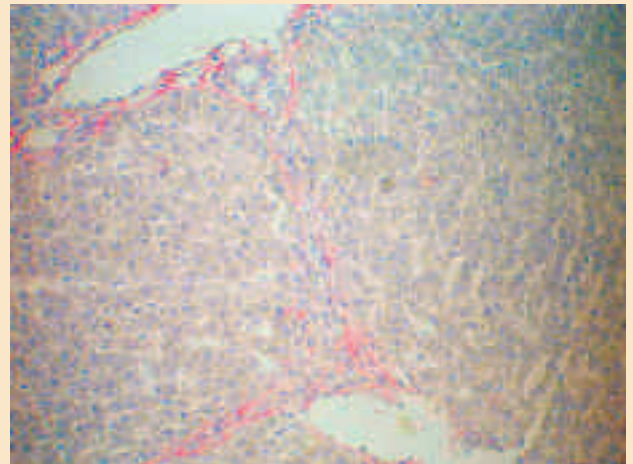
#### Effetti del complesso SPV sulla fibrosi epatica indotta dalla DMN

La somministrazione del complesso SPV ha indotto una significativa riduzione della proliferazione e dell'attivazione delle HSC sia dopo 1 che dopo 5 settimane di trattamento con DMN. L'effetto antifibrotico del complesso SPV è risultato più evidente dopo 5 settimane di trattamento con DMN, allorquando si è registrata una significativa riduzione della deposizione di collagene (Figura 1) ed una importante down-regolazione dei livelli di trascrizione del TGF $_{\beta 1}$ , dell'inibitore tissutale della metalloproteinasi di tipo 1 (TIMP-1) e della metalloproteinasi di tipo 2 (MMP-2).

**Figura 1.** Valutazione della deposizione di collagene mediante colorazione istochimica con Sirius red: come evidente nel pannello **A**, il trattamento con DMN per 5 settimane ha indotto il completo sovvertimento della struttura epatica e la comparsa di una cirrosi micronodulare. Tale quadro è stato significativamente modificato dalla somministrazione del complesso SPV; come evidente nel pannello **B**, l'architettura epatica appare conservata e sono visibili soltanto pochi e sottili setti fibrotici.



**A**



**B**

### **Effetti del complesso SPV sulla fibrosi epatica indotta dalla BDL**

Nei ratti trattati mediante legatura del dotto biliare principale, la somministrazione del complesso SPV

ha ridotto in maniera significativa sia la proliferazione e l'attivazione delle HSC, che la sintesi di collagene, confermando pertanto le proprietà antifibrotiche di tale complesso farmacologico.

## **CONCLUSIONI**

- I risultati di questo studio dimostrano che la storia naturale della fibrosi epatica nel ratto può essere modificata dalla somministrazione del complesso SPV (silibina-fosfatidilcolina-vitamina E).
- Questo complesso di sostanze agisce sulle differenti fasi della fibrogenesi, modulando l'attivazione delle cellule stellate epatiche e riducendo in maniera significativa la sintesi e l'accumulo di collagene a livello del parenchima epatico.
- Nei ratti con fibrosi epatica indotta da dimetilnitrosamina o da legatura del dotto biliare, il complesso SPV mostra un importante effetto epatoprotettivo che si esplica sia a livello cellulare che molecolare.
- Questo studio, pertanto, conferma le proprietà antifibrotiche, antinfiammatorie ed epatoprotettive del complesso SPV suggerendone un possibile e vantaggioso impiego terapeutico nelle malattie croniche del fegato indipendentemente dall'eziologia.