

# Silimarina, ácido alfa-lipoico y seleniometionina en el tratamiento de hígado graso: revisión sistemática de la literatura

Rodrigo Vázquez Frías,\* Juan Gerardo Reyes García,\*\* Cecilia Fernández del Valle Laisequilla,\*\*\*  
Maricruz Anaya Reyes,\*\*\* Antonio Rizzoli Córdoba\*\*\*\*

## RESUMEN

El patrón histológico típico de la enfermedad hepática alcohólica es la esteatohepatitis. La enfermedad por hígado graso no alcohólico es una condición frecuentemente encontrada en sujetos sanos que no consumen alcohol ni padecen alguna otra enfermedad hepática específica. El espectro de ésta va desde la esteatosis asintomática hasta la esteatohepatitis no alcohólica y cirrosis. Aunque la modificación de los factores de riesgo es la piedra angular del tratamiento para la enfermedad por hígado graso, en años recientes existe evidencia creciente de la utilidad de la medicina alternativa. *Silybum marianum* (*milk thistle o silimarina*) es la planta más estudiada para el tratamiento de la enfermedad hepática, especialmente en aquéllas causadas por el estrés oxidativo (enfermedad hepática alcohólica, enfermedad por hígado graso no alcohólico y hepatotoxicidad por medicamentos). Los principales efectos de la silimarina son la estabilización de membrana del hepatocito, efecto antioxidante, regenerador celular, efecto antiinflamatorio y antifibrótico. Estas propiedades han sido evaluadas en ensayos clínicos y experimentales. De acuerdo con estudios abiertos, la administración prolongada de silimarina incrementó significativamente la sobrevida de los pacientes con cirrosis inducida por alcohol. Existe poca evidencia sobre el uso del ácido alfa-lipoico (ácido tióctico) y del selenio en el tratamiento de la enfermedad hepática alcohólica.

**Palabras clave:** Enfermedad hepática alcohólica, esteatohepatitis, enfermedad por hígado graso no alcohólico, hígado graso, *Silybum marianum*, *milk thistle*, silimarina, ácido alfa-lipoico, ácido tióctico, selenio.

**Nivel de evidencia:** III.

*Silymarin, alpha-lipoic acid and selenomethionine in the treatment of fatty liver: a systematic review of the literature*

## ABSTRACT

The typical histological pattern of alcoholic liver disease is a steatohepatitis. Non-alcoholic fatty liver disease is a common condition frequently found in healthy subjects not affected by any other liver disease and not drinking alcohol. The spectrum of Non-alcoholic fatty liver disease ranges from asymptomatic steatosis to nonalcoholic steatohepatitis and cirrhosis. Although risk factors modification remains the cornerstone of therapy for fatty liver disease, there is, in recent years, a growing evidence of usefulness of alternative medicine. *Silybum marianum* (*milk thistle or silymarin*) is currently the most well researched plant in the treatment of liver disease, especially in those caused by oxidative stress (alcoholic and non-alcoholic fatty liver and steatohepatitis, drug and compound induced liver toxicity). The main effects of silymarin are the membrane stabilizing and antioxidant effects, it is able to help the liver cell regeneration; it can decrease the inflammatory reaction and inhibit the fibrogenesis in the liver. These results have been established by experimental and clinical trials. According to open studies, the long administration of silymarin significantly increased the survival time of patients with alcohol-induced liver cirrhosis. There is limited evidence of alpha lipoic acid (thioctic acid), and selenium in the treatment of fatty liver disease.

**Key words:** Alcoholic liver disease, steatohepatitis, non-alcoholic fatty liver disease, fatty liver disease, *silybum marianum*, *milk thistle*, *silymarin*, alpha lipoic acid, thioctic acid, selenium.

**Level of evidence:** III.

## Abreviaturas:

- EHA: enfermedad hepática alcohólica.
- EHGNA: enfermedad por hígado graso no alcohólico.
- EHNA: esteatohepatitis no alcohólica.

\* Servicio de Pediatría del Hospital ABC, The American British Cowdray Medical Center, IAP y Departamento de Gastroenterología y Nutrición del Hospital Infantil de México Federico Gómez.  
\*\* Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional.  
\*\*\* Dirección Médica Productos Medix S.A. de C.V.  
\*\*\*\* Dirección de Investigación, Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Recibido para publicación: 30/11/10. Aceptado: 21/12/11.

Correspondencia: Dr. Rodrigo Vázquez Frías  
Hospital Infantil de México «Federico Gómez», Tel: 52289917, ext. 2157, E-mail: rovaf@yahoo.com

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/analesmedicos>

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad hepática alcohólica (EHA) progresiva a través de varios estadios de daño tisular y disfunción hepática. El consumo prolongado de alcohol puede conducir a un espectro de anomalías hepáticas que van desde asintomáticas, caracterizadas únicamente por hígado graso (esteatosis hepática), hígado graso acompañado de inflamación (esteatohepatitis), formación cicatrizal del tejido (fibrosis), destrucción de arquitectura normal del hígado (cirrosis) e inclusive cáncer hepático.<sup>1</sup> Se considera que el alcohol funciona como una «potencial hepatotoxina», al desarrollar enfermedad hepática dependiendo del balance del hospedero con factores como el género, polimorfismos de enzimas metabolizadoras de alcohol, factores inmunológicos, exposiciones a otras substancias o drogas, infecciones virales, obesidad, entre otras.<sup>2</sup> Los hallazgos histológicos pueden ir desde el almacenamiento de grasa en los hepatocitos hasta esteatohepatitis grave con grasa macrovesicular, necrosis de los hepatocitos y una infiltración prominente por neutrófilos junto con los cuerpos de Mallory formados a partir de mitocondrias dañadas. Se considera a la generación de estrés oxidativo como el eje central de la fisiopatología, junto con una endotoxemia dada por el incremento en la permeabilidad intestinal. Las células de Kupffer se encuentran activadas por la liberación de citocinas proinflamatorias y liberan factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), lo que condiciona el infiltrado por neutrófilos como parte de la necroinflamación y activación macrofágica.<sup>3</sup>

El exceso de peso corporal en sujetos con alto consumo de alcohol, incrementa la gravedad de la esteatosis y es un factor de riesgo para el desarrollo de hepatitis alcohólica aguda y cirrosis.<sup>4</sup> Además, se ha encontrado que el abuso de alcohol es un factor de riesgo adverso en la progresión de la fibrosis/cirrosis en la infección por el virus de la hepatitis C (VHC).<sup>5</sup>

La enfermedad por hígado graso no alcohólica (EHGNA) es un espectro de alteraciones que van desde la esteatosis a la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), término acuñado en 1980 por Ludwig.<sup>6</sup> Se cree que hasta el 90% de los casos de alteración de las funciones hepáticas sin causa identificable son causadas a la EHGNA. Se sabe que en general la resistencia a la insulina se encuentra implicada en la patogénesis de la EHGNA.<sup>7</sup> La EHNA es una entidad caracterizada por hallazgos clínicos, bioquímicos e histológicos esencialmente idénticos a los de la esteatohepatitis inducida por alcohol. La EHGNA se define como la acumulación de grasa que excede en 5 a

10% el peso, aunque en la práctica se estima con base en el porcentaje de los hepatocitos que se observan llenos de grasa bajo el microscopio.<sup>8</sup>

Aunque se considera que sólo el 5% aproximado de los pacientes con esteatosis hepática grave desarrollarán a lo largo del tiempo fibrosis o cirrosis, la prevalencia de las personas con sobrepeso/obesidad, convierte al hígado graso no alcohólico en una nueva epidemia de cirrosis.<sup>5</sup>

La prevalencia de la EHGNA en diferentes partes del mundo es alta. Los estimados van del 10 al 30% en la población general y aproximadamente de 2 a 3% de la misma población tiene esteatohepatitis.<sup>9</sup> No existe predominio de sexo, aunque algunos estudios han mostrado mayor prevalencia en hombres obesos.<sup>10,11</sup> Es más frecuente en hispanos que en los caucásicos o y afroamericanos.<sup>12</sup> La prevalencia de la EHGNA aumenta en paralelo con el peso o índice de masa corporal del subgrupo estudiado. La prevalencia de esteatosis en individuos obesos (IMC mayor a 30 kg/m<sup>2</sup>) es de 65 a 75% y en obesos mórbidos (IMC mayor a 25 kg/m<sup>2</sup>) de 85 a 90%.<sup>7</sup> Los estudios de los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica muestran que entre 40 y 95% son obesos, más de la mitad padecen de diabetes mellitus tipo 2, y cerca del 80% padecen de dislipidemia.<sup>13</sup>

Se estima que en los injertos hepáticos de donadores cadávericos, la prevalencia de hígado graso es de 37 a 51%, con 21% de éstos teniendo niveles de esteatosis mayores al 30%, lo que puede comprometer el funcionamiento del injerto.<sup>14</sup> De la tercera parte a la mitad de los injertos hepáticos provenientes de donadores vivos, se encuentra algún grado de EHGNA, y de éstos entre 5 y 15% de los casos tienen una afectación de los hepatocitos mayores al 30%.<sup>15</sup>

En un estudio realizado en Veracruz<sup>16</sup> de pacientes adultos a quienes se les practicó biopsia hepática durante la realización de colecistectomía, se encontró que el 54.7% de los pacientes tenían alguna forma de hígado graso. Se encontraron como factores de riesgo la obesidad (67.3%), diabetes mellitus (17.3%) y dislipidemia (76.9%).

González-Pérez y su grupo,<sup>17</sup> en un estudio realizado en México de niños y adolescentes, encontraron que la prevalencia de esteatosis hepática fue de 28.3%, que los promedios de los niveles de ALT, GGT e insulina en ayuno, así como HOMA fueron significativamente más altos en pacientes con esteatosis comparado con los obesos sin esteatosis. También encontraron que el ultrasonido permitió hacer el diagnóstico, con una correlación muy alta con las enzimas hepáticas.

La alta prevalencia de este problema de salud, el hecho de ser asintomático en etapas iniciales, la posibilidad de desarrollar cirrosis, e incluso el hecho de que algunos injertos pueden ser no útiles para trasplante por padecerla, convierten a la enfermedad por hígado graso en un serio problema de salud.

La fisiopatogenia exacta de la EHGNA se desconoce. La resistencia a la insulina, el estrés oxidativo y la cascada de inflamación juegan un papel integral en la patogénesis y progresión de la EHGNA.<sup>18</sup> En el contexto de un índice de masa corporal incrementado (IMC), la EHGNA se correlaciona con la obesidad central y es parte de lo que se ha denominado Síndrome X. En adultos, se considera la manifestación hepática del síndrome metabólico. Esta entidad incluye también hipertrigliceridemia, disminución en las lipoproteínas de alta densidad, hipertensión y resistencia a la insulina.<sup>19</sup>

La esteatohepatitis, que es la forma más grave del espectro de la EHGNA, es mucho más probable que evolucione a fibrosis y/o cirrosis. Los hallazgos histológicos clave de esta parte del espectro difieren en adultos y niños; en los primeros la clave es la fibrosis perisinusoidal, mientras que en los últimos es más característica la fibrosis portal.<sup>20</sup> La progresión de esteatosis a esteatohepatitis es un proceso que involucra varios eventos sucesivos, con la participación de fenómenos dominantes como la resistencia a la insulina, el estrés oxidativo y la inflamación.<sup>21,22</sup> Aunque la exacta fisiopatogenia de la EHGNA no se conoce, los estudios se han enfocado en la presencia de marcadores como la peroxidación de los lípidos, la formación de especies reactivas de oxígeno, disfunción mitocondrial, secreción de citocinas inflamatorias y adipocinas, infiltrado por polimorfonucleares, células hepáticas en balón, formación de cuerpos de Mallory y el depósito de colágeno para hacer el diagnóstico de EGHNA o desarrollar nuevas estrategias de tratamiento.<sup>23,24</sup>

La teoría patogénica más aceptada en la actualidad es la del «doble impacto» propuesta por Day y James en 1998,<sup>25</sup> en la que el primer impacto es la acumulación de grasa al interior de los hepatocitos asociada a un trastorno de la homeostasis del metabolismo de las grasas, una de las causas fundamentales de esto es la alteración de la respuesta celular a la insulina. Esta acumulación, inicialmente, sería compensada por las actividades antioxidantes de las células, pero, en caso de prolongarse, los hepatocitos serían vulnerables a un «segundo impacto». Este segundo impacto se refiere al exceso de radicales libres generado por una situación de estrés oxidativo cróni-

co que activa la peroxidación lipídica, la producción de factor de necrosis tumoral y la cascada proinflamatoria descrita anteriormente, con la subsecuente necrosis y fibrosis.<sup>26</sup>

En un estudio realizado en muestras hepáticas de pacientes con diagnóstico de EHGNA<sup>27</sup> encontraron que la esteatosis se asoció a un elevado estrés oxidativo, y que en estados más avanzados se observa menor actividad antioxidante, lo que indica que el estrés oxidativo es un evento precoz en EHGNA.

En niños,<sup>28</sup> esta enfermedad tiene una presentación frecuentemente silenciosa, con la presencia de hepatomegalia como único hallazgo entre el 30 y 40% de los casos, y como parte de la sintomatología se manifiesta dolor abdominal (42 a 59%), fatiga, malestar general y sensación de plenitud o disconformidad en la parte superior derecha del abdomen. La acantosis nigricans en cuello y axilas asociada a hiperinsulinemia puede encontrarse en 50% de los pacientes pediátricos con EHGNA. La fisiopatología se considera similar a la del adulto.<sup>29</sup>

El diagnóstico se puede establecer cuando se han descartado todas las demás causas de alteración de las pruebas de perfil hepático y de haber realizado estudios de imagen complementarios. No existe consenso acerca de si es o no necesaria la realización de biopsia hepática para su confirmación.<sup>12</sup>

## TRATAMIENTO DEL HÍGADO GRASO

A diferencia de otras causas de hepatopatía crónica, no existen algoritmos formales de tratamiento que simplifiquen el manejo de EHGNA. El manejo en general incluye modificación de los factores de riesgo subyacentes, la detección de los pacientes que han progresado a cirrosis, manejo de la comorbilidad asociada y el trasplante, en aquellos casos de falla hepática terminal.<sup>8</sup>

Muchas de las medidas utilizadas para el tratamiento de la EHGNA han mostrado poco impacto en el manejo de estos pacientes. La mayoría de los estudios al respecto presentan la desventaja de poco tamaño de muestra y períodos de seguimiento de los pacientes muy cortos. A pesar de la falta de evidencia que documente la asociación entre dieta y ejercicio con la mejoría histológica de EHGNA, estas intervenciones deben de ser la terapia de primera línea en los pacientes con sobrepeso y obesidad. Varios autores han recomendado una meta de pérdida de peso mayor al 7%.<sup>30,31</sup>

Las medidas de tratamiento farmacológico que han sido utilizadas hasta el momento, incluyen el uso

de inhibidor de la lipasa pancreática (Orlistat) solo o en combinación con atorvastatina y ácidos grasos omega 3, así como con inhibidores del apetito, agonistas del péptido relacionado a Glucagón 1 (GPL-1), Tiazolidinedionas, metformina, biguanidas, ácido ursodesoxicólico, derivados del ácido fíbrico, antioxidantes como la vitamina E, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y bloqueadores de receptor de angiotensina.<sup>12</sup> El efecto en la histología hepática que se ve con el uso de inhibidores de la lipasa y los agentes supresores del apetito parecen estar relacionadas más con la pérdida de peso que con un efecto directo sobre el parénquima hepático.<sup>12</sup>

En los últimos años se ha observado un gran incremento en el uso de medicina alternativa, y de ésta, en especial, la terapia herbal entre los pacientes con enfermedad hepática, y dentro de estos compuestos, la silimarina es la más utilizada.<sup>32</sup> Tan sólo en Alemania, la venta de dicho producto es de 180 millones de dólares. Entre 1992 y 1996 en ese país, cerca de la tercera parte de los pacientes externos de las clínicas de hígado utilizaban remedios naturales.<sup>33</sup>

Se ha utilizado la silimarina en diferentes enfermedades hepáticas, como intoxicación por *Amanita phalloides*, enfermedades tóxicas o iatrogénicas hepáticas, enfermedad hepática alcohólica, cirrosis hepática, entre otras con diferentes resultados reportados.<sup>34</sup>

#### SILIMARINA EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD HEPÁTICA

La silimarina es un flavonoglicano extraído de las semillas y el fruto de *Silybum marianum* o «Cardo Mariano», y es una mezcla de tres compuestos diferentes: silibinina, siliidianina y silicristina.<sup>35</sup> Ha sido utilizada en intoxicación producida por la seta venenosa *Amanita phalloides*, así como en padecimientos hepáticos por su efecto regenerador celular, inhibidor de leucotrienos y efecto antioxidante.<sup>36</sup>

Los estudios tanto en animales como en clínicos para evaluar los mecanismos de acción de la silimarina y sus compuestos relacionados, se han incrementado recientemente, como se muestra en la revisión realizada por Pradhan de los estudios de farmacología experimental.<sup>37</sup>

En un estudio en ratas a quienes se les realizó hepatectomía parcial del 70%, el grupo que fue pretratado con silimarina mostró un incremento en la síntesis de DNA, RNA, proteínas y colesterol, comparado con el grupo que no fue pretratado, lo que sugirió regeneración hepática.<sup>38</sup>

El daño hepático por la cirrosis alcohólica o el tetracloruro de carbono ( $CCl_4$ ) es causado por la infiltración grasa de los hepatocitos. David y asociados concluyeron que el etanol conduce a la acumulación hepática de grasa y, finalmente, a la cirrosis hepática.<sup>39</sup> Tsai JH junto con sus colaboradores<sup>40</sup> demostraron en un ensayo en ratas que la restauración a partir de la fibrosis hepática inducida por  $CCl_4$  fue mucho mayor en el grupo tratado con silimarina, además de que los animales manejados con este medicamento tenían menores niveles de alanino aminotransferasa, aspartato aminotransferasa y fosfatasa alcalina. Asimismo, inhibe la inducción del citocromo p4502E1, el metabolismo del etanol y la generación de especies reactivas de oxígeno, y la proliferación inducida por etanol en cultivo de células de carcinoma hepatocelular.<sup>41</sup> Eminzade y su grupo<sup>42</sup> mostraron en un ensayo en ratas, que la administración simultánea de silimarina con tratamiento antituberculoso (isoniacida más rifampicina, o bien isoniacida más rifampicina más pirazinamida) disminuye significativamente los cambios bioquímicos e histológicos hepatotóxicos inducidos por los fármacos. Por su parte, Ramellini y asociados<sup>43</sup> mostraron que el tratamiento con silimarina normalizaba los parámetros bioquímicos en hígado y suero causados por acetaminofén.

En ratones, la silimarina fue 100% efectiva para prevenir la toxicidad cuando se administraba pretratamiento o hasta 10 minutos después del envenenamiento con la toxina de amanita. El daño hepático severo se previno cuando se administró silimarina hasta 24 horas después de dicha intoxicación.<sup>44</sup>

Se han descrito diferentes efectos en el páncreas, incluyendo: la recuperación de la función pancreática después del daño por alloxan,<sup>45</sup> la inhibición de la liberación de insulina inducida por glucosa *in vitro* sin afectar la concentración sérica de glucosa *in vivo*, así como la protección de las células pancreáticas de la toxicidad por ciclosporina A,<sup>46</sup> o bien un efecto citoprotector directo sobre las células beta del páncreas.<sup>47</sup>

Shaker E y asociados<sup>48</sup> mostraron que al utilizar extractos de silimarina (100mg/kg de agua corporal), la inhibición de la absorción del colesterol puede ser la responsable del cambio positivo presente en el perfil de lipoproteínas de colesterol y el contenido de lípidos plasmáticos, además de que el reforzamiento antioxidante de los hepatocitos dado por la silimarina puede contraatacar el estrés oxidativo/nitrosativo y contribuir con el bloqueo de la enfermedad hepática. Ka SO y su grupo,<sup>49</sup> utilizando el análisis de RT-PCR, encontraron que la sibilina disminuye la expresión de genes relacionados con la adipogéne-

sis como la sintetasa de ácidos grasos, la proteína de unión al elemento de respuesta del esteroide, entre otros; lo que sugiere que la silibinina inhibe la diferenciación de los adipocitos en una etapa temprana y puede prevenir, mediante ese efecto, el progreso del hígado graso. Haddad y asociados,<sup>50</sup> en un modelo experimental de EHGNA, encontraron que el tratamiento con sibilina mejoró la esteatosis hepática, así como la inflamación, disminuyendo la peroxidación de lípidos, insulina plasmática y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa). Asimismo, disminuyó la liberación de superóxido, además de regresar el hígado al tamaño original.

Existe evidencia experimental de la silimarina como tratamiento para la infección por virus de la hepatitis, la cual fue reportada cuando en un cultivo de células de hepatoma humano ésta bloqueó la infección por virus de hepatitis C. Asimismo, inhibe la transcripción del factor nuclear kappa (NFkB) dependiente de TNF-alfa, la proliferación mediada por receptores de células T (TCR) y la producción de citocinas proinflamatorias por los linfocitos T,<sup>51,52</sup> además bloquea *in vitro* a altas concentraciones la actividad de la polimerasa NS5B del virus de la hepatitis C (HCV).<sup>53</sup> Polyak SJ y colaboradores<sup>54</sup> caracterizaron las diferentes medidas de protección de los compuestos puros de silimarina, y encontraron que la silibinina, la taxifolina y la isosobilina A son los hepatoprotectores más efectivos; además, que la silimarina inhibe parcialmente la translocación nuclear de las subunidades p50 y p65 del NF-KB. Se considera que la silimarina inhibe el estrés oxidativo inducido por el HCV a través de dos mecanismos: acciones antivirales que disminuyen la replicación viral y componentes flavonolignanos con actividad antioxidante por no antiviral. También reportó recientemente que las silibininas A y B inhiben en replicón del HCV en cultivo celular, esto dada la habilidad de los compuestos de inhibir la actividad de la RNA polimerasa y RNA-dependiente del HCV.<sup>55</sup>

Con el objetivo de conocer la utilidad de la silimarina en el tratamiento del hígado graso en humanos se realizó una revisión sistemática de la literatura. Se buscaron estudios de ensayos clínicos de 1970 al 3 de abril de 2010, disponibles en las bases de datos MEDLINE, COCHRANE DATABASE, ARTEMISA y LILACS, así como en la bibliografía de los artículos encontrados. Las palabras clave de la búsqueda fueron («milk thistle» [MeSH Terms] OR («milk» [All Fields] AND «thistle» [All Fields]) OR «milk thistle» [All Fields]) OR («milk thistle» [MeSH Terms] OR («milk» [All Fields] AND «thistle» [All Fields]) OR

«milk thistle» [All Fields] OR («carduus» [All Fields] AND «marianus» [All Fields]) OR «carduus marianus» [All Fields]) OR («milk thistle» [MeSH Terms] OR («milk» [All Fields] AND «thistle» [All Fields]) OR «milk thistle» [All Fields] OR («silybum» [All Fields] AND «marianum» [All Fields]) OR «silybum marianum» [All Fields]) OR «silybum» [All Fields] OR («silymarin» [MeSH Terms] OR «silymarin» [All Fields] OR («silybin» [Substance Name] OR «silybin» [All Fields] OR («silychristin» [Substance Name] OR «silychristin» [All Fields] OR «silicristin» [All Fields]) OR («silydianin» [Substance Name] OR «silydianin» [All Fields] OR «silidianin» [All Fields]) OR («IdB 1016» [Substance Name] OR «IdB 1016» [All Fields] OR «silipide» [All Fields]) AND («clinical trial» [Publication Type] OR «clinical trials as topic» [MeSH Terms] OR «clinical trial» [All Fields]). La búsqueda se limitó a artículos en inglés o español que fueran realizados en humanos.

Se encontraron 100 artículos, de los cuales 29 eran de farmacocinética o farmacodinamia; 16 eran estudios de enfermedades no hepáticas, 13 de estudios en cáncer, 15 artículos de revisión de silimarina en enfermedades hepáticas, 10 de metaanálisis o revisiones sistemáticas y 17 de ensayos clínicos.

De los ensayos clínicos, 12 estaban incluidos en el metaanálisis realizado por el grupo de COCHRANE. Los artículos citados fueron los mismos encontrados por la estrategia de búsqueda inicial. Los cinco ensayos clínicos recientes analizaron diferentes aspectos y enfermedades, por lo que no se realizó un metaanálisis adicional, y se describen los hallazgos encontrados en la revisión de Cochrane y de los artículos más recientes relacionados con la silimarina en el tratamiento de la enfermedad hepática (*Figura 1*).

La revisión sistemática y el metaanálisis publicados en la Biblioteca Cochrane, los cuales fueron realizados por Rambaldi A y su grupo<sup>56</sup> en 2005, con última actualización en 2007, tuvieron como objetivo evaluar los efectos del cardo marián o sus constituyentes *versus* placebo o ninguna intervención, en pacientes con hepatopatía alcohólica y/o enfermedad hepática viral. Sólo incluyeron ensayos clínicos aleatorios de pacientes con cirrosis hepática alcohólica, fibrosis hepática, hepatitis y/o esteatosis, así como enfermedad hepática inducida por virus (hepatitis B o C). Se incluyeron 18 ensayos que cumplieron los criterios de relevancia y validez. La mortalidad por hepatopatía disminuyó significativamente con el cardo marián en todos los ensayos (RR 0.50; IC de 95%: 0.29-0.88), pero no en los ensayos de alta calidad (RR 0.57; IC de 95%: 0.28-1.19). El cardo marián

no se asoció con un aumento significativo del riesgo de eventos adversos (RR 0.83; IC de 95%: 0.46-1.50). Refieren que la ausencia de pruebas no es lo mismo que la evidencia de ausencia del efecto y que los ensayos futuros sobre el cardo mariano deben de tener un tamaño de muestra adecuado, además de reclutar pacientes con enfermedad bien definida. Con base en la evidencia disponible, concluyeron que no se pudo apoyar el uso del cardo mariano fuera de los ensayos clínicos aleatorios.

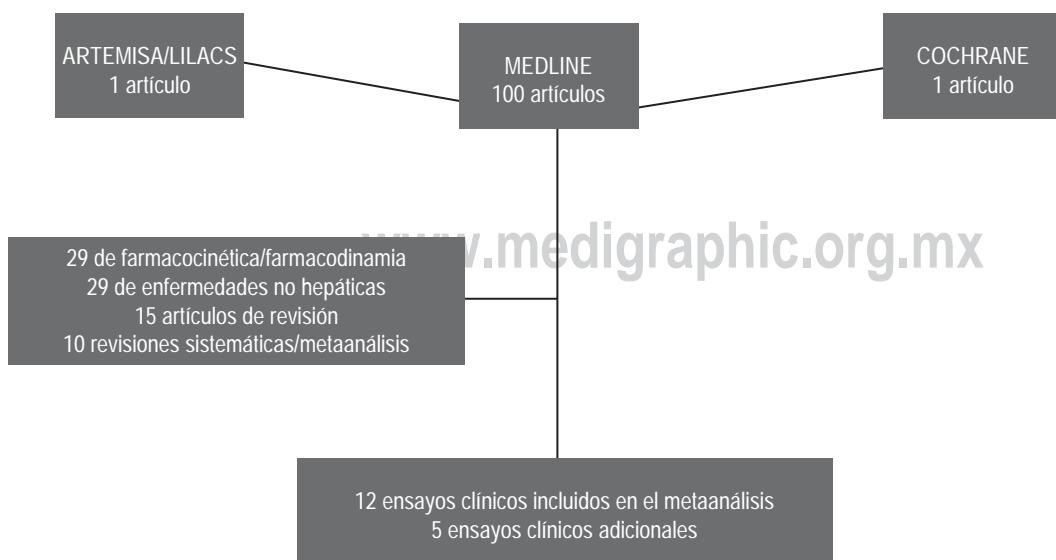
Sólo se encontraron ya publicados en la literatura dos estudios clínicos de la silimarina en el hígado graso, uno ya incluido en el metaanálisis de Cochrane y el otro encontrado en la búsqueda inicial descrita, que es la versión final del analizado en la revisión de Cochrane.

El estudio realizado por Loguercio C y asociados,<sup>57</sup> en 59 pacientes con hígado graso no alcohólico sin causa evidente (grupo A) o 26 pacientes asociado a hepatitis C (grupo B), con diagnóstico de hígado graso por ultrasonido, buscó evaluar el efecto en el daño hepático, los efectos de los mecanismos patogénicos y en marcadores de fibrosis. La intervención fue la administración de cuatro cápsulas al día (cada una contenía 94mg de silibina, 194mg de fosfatidilcolina y 90mg de vitamina E) durante seis meses seguidos de seis meses sin tratamiento. No se reportaron efectos adversos graves o leves, sin pérdidas en el seguimiento. En el grupo A se encontró una disminución significativa en el grado de esteatosis por ultrasonido. Los niveles enzimáticos, la hiperinsulinemia y los índices de fibrosis mejoraron en los pacientes tratados. Las

principales limitantes es que fue un estudio abierto, sin placebo y sin evaluación histológica.

Se están realizando estudios (registrados en <http://www.clinicaltrials.gov/>) para evaluar la eficacia y seguridad de la silimarina en relación con enfermedades hepáticas.<sup>58</sup>

La toxicidad de la silimarina se ha estudiado en ratones, ratas, conejos y perros después de infusión intravenosa. La dosis letal 50 (LD50) en ratones es de 400 mg/kg, 385 mg/kg en ratas y 140 mg/kg en conejos y perros. Después de la administración VO la tolerancia es mucho mayor, la cual llega a ser hasta de 10 g/kg. En caso de intoxicación aguda, la causa de muerte parece ser falla cardiovascular. Estos datos demostraron que la toxicidad aguda, subaguda y crónica de la silimarina es muy baja, y con un muy amplio margen de seguridad.<sup>59</sup> A altas dosis se ha reportado diarrea asociada a mayor flujo biliar. En algunos ensayos clínicos se reportaron como efectos adversos menores dispepsia, náusea y diarrea en el 2-10% de los participantes. No se han reportado efectos adversos graves.<sup>60</sup> Se ha demostrado que la silibinina inhibe la glucoronización catalizada por UGT1A1, -1A6, 1A9, -2B7 y -2B15, y la silimarina inhibe a las isoenzimas CYP3A4 y UGT1A en forma discreta y concentración dependiente.<sup>61</sup> No se encontró modificación en los niveles de nifedipino, irinotecán, indinavir, digoxina, rosuvastatina ni ranitidina. Se observó que la silimarina incrementa el aclaramiento de metronidazol con un decremento discreto en la vida media del metronidazol. No se han evaluado las interacciones farmacológicas de la terapia a largo plazo.<sup>62</sup>



**Figura 1.** Resultados de la revisión sistemática de los ensayos clínicos de la silimarina en el tratamiento de enfermedades hepáticas.

## ÁCIDO ALFA-LIPOICO EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD HEPÁTICA

El ácido alfa-lipoico (AAL), o ácido 1,2-diotiolano-3-pentaenoico, es un compuesto ditiol sintetizado enzimáticamente en la mitocondria a partir del ácido octanoico. Es un factor necesario para las deshidrogenasas de alfacetoácidos mitoncodriales, por lo que tiene un papel crucial en el metabolismo energético mitocondrial. Se considera que el AAL actúa indirectamente para mantener el estatus antioxidante celular al inducir la recaptura o promover la síntesis tanto de antioxidantes de bajo peso molecular, o enzimas antioxidantes. Incrementa indirectamente los niveles de ascorbato endógenos, a partir del plasma.<sup>63</sup> Incrementa dramáticamente el glutatión intracelular, al reducir la cistina en cisteína, además de aumentar la captura celular de cistina con su posterior reducción, lo que es el paso limitante para la formación de glutatión. Se considera al AAL como un agente efectivo para restablecer tanto el declinamiento asociado a la edad en la razón de reducción del grupo tiol, como incrementando los niveles de glutatión al incrementar también su síntesis de novo.<sup>64</sup> Además, media la inducción de la síntesis de glutatión a través del factor Nrf2, incrementando la expresión del substrato del receptor de insulina 1 (IRS1); mejora el transporte de glucosa y la tolerancia a la glucosa, disminuyendo la resistencia a la insulina.

Se realizó una revisión de la literatura en PubMed y Artemisa para buscar ensayos clínicos del tratamiento con ácido alfa-lipoico (ácido tióctico, ácido lipoecoico) en enfermedades hepáticas, y sólo se encontró un artículo. Marshall y colaboradores<sup>65</sup> realizaron un estudio de 40 pacientes con consumo de alcohol mayor a 80 g por día y cambios en la biopsia hepática compatibles con precirrosis (infiltración grasa, hepatitis alcohólica o fibrosis), los cuales fueron asignados aleatoriamente a dos grupos similares de 20 participantes. La intervención fue de 300 mg de ácido alfa-lipoecoico dividido en tres dosis por 24 semanas, o placebo. No encontraron cambios estadísticamente significativos en los índices de laboratorio. Concluyeron que este medicamento no influencia la enfermedad hepática por alcohol.

No hay estudios que evalúen la eficacia del ácido alfa-lipoecoico en el tratamiento de EHGNA.

Se han utilizado dosis de hasta 2,400 mg/día sin reportar efectos adversos *versus* placebo. Se han administrado dosis IV de 600 mfd por tres semanas sin evidencia de efectos adversos. Las dosis VO de 1,800

mg durante seis meses no dieron efectos adversos significativos comparados con el placebo.<sup>66</sup>

## SELENIO EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD HEPÁTICA

El selenio es un componente esencial de varias vías metabólicas mayores, dentro de los que se incluyen el metabolismo de las hormonas tiroideas, los sistemas de defensa antioxidantes y la función inmunológica.<sup>67</sup> El selenio es incorporado a la selenocisteína en el sitio activo de varias selenoproteínas, dentro de las que se incluyen las cuatro enzimas de la glutatión peroxidasa (la clásica GPx1, la gastrointestinal GPx2, la plasmática GPx3 y la peroxidasa de fosfolípidos o GPx4) con efecto antioxidante al reducir directamente el peróxido de hidrógeno y los peróxidos de los lípidos retirados por la fosfolipasa A2.<sup>68,69</sup> La glutatión peroxidasa asociada a la membrana celular (GPx4) es directamente responsable de la destrucción de los hidroperóxidos de los lípidos; también es capaz de metabolizar los hidroperóxidos de éster de colesterol o de colesterol solo, contenidos en las lipoproteínas de baja densidad. Esta función es fundamental para evitar la cadena de reacciones desencadenadas por los radicales libres que conllevan a lesión o destrucción de la membrana celular.<sup>70</sup>

Se realizó una revisión de la literatura en PubMed y Artemisa para buscar ensayos clínicos del tratamiento con selenio (seleniometionina) en enfermedades hepáticas y sólo se encontró un artículo. Stewart S y asociados<sup>71</sup> realizaron un ensayo en 32 pacientes con diagnóstico de hepatitis alcohólica grave, donde se estratificaron por sexo y uso de esteroides y posteriormente se aleatorizaron. La intervención fue N-acetil cisteína por una semana, posteriormente vitaminas A-E, biotina, selenio, zinc, manganeso, cobre, magnesio, ácido fólico y coenzima Q diariamente durante seis meses. Se concluyó que la terapia antioxidante, aislada o asociada a tratamiento con esteroide no mejoraba la sobrevida a seis meses en la hepatitis alcohólica grave.

No hay estudios que evalúen la eficacia del selenio en el tratamiento de EHGNA.

Se encontró sólo un artículo donde se utilizó la combinación de ácido lipoico, silimarina y selenio. En este artículo únicamente se describe la administración de la combinación a tres pacientes adultos con diagnóstico de hepatitis C, y se refiere que tuvieron una rápida recuperación y mejora en los valores de laboratorio.<sup>72</sup>

## CONCLUSIONES

La esteatosis simple presenta un curso clínico relativamente benigno, pero la esteatohepatitis puede progresar hacia cirrosis y hepatocarcinoma. No hay un tratamiento bien definido en la actualidad, y la mejor opción es una terapia multidisciplinaria que incluya el tratamiento de la obesidad, de la resistencia a la insulina, la hipertensión arterial, la hiperlipidemia y la diabetes mellitus. En los últimos años se ha observado un gran incremento en el uso de medicina alternativa entre los pacientes con enfermedad hepática, dentro de ésta la silimarina es la más utilizada.

La silimarina cuenta con diversos mecanismos de acción, predominantemente antioxidantes a nivel hepático, y en algunos de los recién descubiertos su capacidad para prevenir o revertir la fibrosis hepática; cuenta con evidencia científica para ser una opción terapéutica para la enfermedad por hígado graso, aunque aún faltan ensayos clínicos contundentes. Su combinación con el ácido alfa-lipoecoico y la seleniometionina tiene sustento teórico y científico adecuado para tener una actividad sinérgica y complementaria en la actividad antioxidante a nivel hepático, y con ella disminuir el «segundo impacto» de la teoría del desarrollo de la fibrosis. No hay evidencia hasta el momento de la utilidad del ácido alfa-lipoecoico y la seleniometionina por sí solos para el manejo del hígado graso.

Una de las principales ventajas es el gran perfil de seguridad que tienen todos los componentes.

Es necesario realizar estudios clínicos para poder establecer su eficacia y si las propiedades teóricas se aterrizan en una buena opción disponible para el tratamiento del hígado graso.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Nagata K, Suzuki H, Sakaguchi SH. Common pathogenic mechanism development progression of liver injury caused by non-alcoholic or alcoholic steatohepatitis. *J Toxicol Sci* 2007; 32 (5): 453-468.
2. Carithers R, McClain C. Alcoholic liver disease. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ eds. Sleisinger's and Fordtran's gastrointestinal and liver disease. 8 ed. Philadelphia, PA, 2006; 2: 1771-1792.
3. Williams R. The pervading influence of alcoholic liver disease in hepatology. *Alcohol alcohol* 2008; 43 (4): 393-397.
4. Naveau S, Cassard-Doulcier AM, Njiké-Nakseu M, Bouchet-Delbos L, Barri-Ova N, Boujedidi H et al. Excess weight risk factor for alcoholic liver disease. *Hepatology* 1997; 25: 108-111.
5. Williams R. Global challenges in liver disease. *Hepatology* 2006; 44 (3): 521-526.
6. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980; 55 (7): 434-438.
7. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 1221-1231.
8. Cairns SR, Peters TJ. Biochemical analysis of hepatic lipid in alcoholic and diabetic and control subjects. *Clin Sci (Lond)* 1983; 65 (6): 645-652.
9. Ruhl Ce, Everhart JE. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver. *Clin Liv Dis* 2004; 3: 501-519.
10. Arun J, Clements RH, Lazenby AJ, Leeth RR, Abrams GA. The prevalence of nonalcoholic steatohepatitis is greater in morbidly obese men compared to women. *Obes Surg* 2006; 16: 1351-1358.
11. Weston SR, Leyden W, Murphy R, Bass NM, Bell BP, Manos MM, Turrent NA. Racial and ethnic distribution of nonalcoholic fatty liver in persons with newly diagnosed chronic liver disease. *Hepatology* 2005; 41: 372-379.
12. Lewis JR, Mohanty SR. Nonalcoholic fatty liver disease: a review and update. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 560-578.
13. Cortez-Pinto H, Camilo ME. Non-alcoholic fatty liver disease/non alcoholic steatohepatitis: diagnosis and clinical course. *Prac Res Clin Gastroenterol* 2002; 18: 1089-1104.
14. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease and liver transplantation. *Liver Transpl* 2006; 12: 523-534.
15. Ryan CK, Johnson LA, Germin BI, Marcos A. One hundred consecutive hepatic biopsies in the workup of living donors for right lobe liver transplantation. *Liver Transpl* 2002; 8: 1114-1122.
16. Roesch-Dietlen F, Pérez-Morales A, Melo-Santisteban G, Díaz-Blanco F, Martínez-Fernández S, Martínez JA, Cid-Juárez S. Frequency and clinical, biochemical and histological characteristics of nonalcoholic fatty liver disease in patients with gallstone disease. *Cir Cir* 2008; 76 (1): 37-42.
17. González-Pérez B. Esteatosis hepática en niños obesos: prevalencia y correlación con medidas antropométricas y parámetros bioquímicos. *Rev Endocrinol Nutr* 2008; 16 (2): 59-65.
18. Flores-Huerta S, Acosta-Cázares B, Gutiérrez-Trujillo G. ENCPREVENIMSS 2003. Prevalence of low weight, overweight, general obesity and central obesity. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2006; 44 (Suppl 1): S55-62.
19. Preiss D, Sattar N. Non-alcoholic fatty liver disease: an overview of prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment considerations. *Clin Sci* 2008; 115: 141-150.
20. Rashid M, Roberts EA. Nonalcoholic steatohepatitis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 48-53.
21. Das K, Kar P. Non-alcoholic steatohepatitis. *J Assoc Physicians India* 2005; 53: 195-199.
22. Malhi H, Gores GJ. Molecular mechanisms of lipotoxicity in non alcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 360-369.
23. Brunt EM, Tiniakos DG. Pathological features of NASH. *Front Biosci* 2005; 10: 1475-1484.
24. Malhi H, Gores GJ. Cellular and molecular mechanisms of liver injury. *Gastroenterology* 2008; 134: 1641-1654.
25. Day CP, James OLW. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845.
26. Byrne CD, Olufadi R, Bruce KD, Cagampang FR, Ahmed MH. Metabolic disturbances in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci* 2009; 116: 539-564.
27. Carrasco-Loza RA, Castillo RL, Huerta PA, Thieleman L. La enfermedad de hígado graso no alcohólica y su asociación con obesidad y estrés oxidativo hepático. *MEDUNAB* 2003; 6 (16): 15-20.
28. Kerkar N. Non-alcoholic steatohepatitis in children. *Pediatr Transpl* 2004; 8: 613-618.
29. González-Pérez B. Esteatosis hepática en niños obesos. *Rev Endocr Nutr* 2008; 16 (2): 74-82.

30. Huang MA, Greenson JK, Chao C, Anderson L, Peterman D, Jacobson J et al. One-year intense nutritional counseling results in histological improvement in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1072-1081.
31. Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: selected practical issues in their evaluation and management. *Hepatology* 2009; 49: 306-317.
32. Verma S, Thuluvath PJ. Complementary and alternative medicine in hepatology: a review of the evidence of efficacy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5 (4): 408-416.
33. Schuppan D, Jia JD, Brinkhaus B, Hahn EG. Herbal products for liver diseases: a therapeutic challenge for the new millennium. *Hepatology* 1999; 30: 1099-1104.
34. Saller R, Meier R, Brignoli R. The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs* 2001; 61 (14): 2035-2063.
35. Valenzuela A, Garrido A. Biochemical bases of the pharmacological action of the flavonoid silymarin and of its structural isomer silibinin. *Biol Res* 1994; 27: 105-112.
36. Saller R, Brignoli R, Melzer J, Meier R. An updated systematic review with meta-analysis for the clinical evidence of silymarin. *Fortschr Komplementmed* 2008; 15 (1): 9-20.
37. Pradhan SC, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J Med Res* 2006; 124: 491-504.
38. Sivastava S. Effect of picroliv and silymarin on liver regeneration in rats. *Indian J Pharmacol* 1994; 26: 19-22.
39. David WMJr, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's review of biochemistry. 224-233, 18th. Middle East Ed Lange Medic Public, Los Altos CA, 1981.
40. Tsai JH, Liu JY, Wu TT, Ho PC, Huang CY, Shyu JC, Hsieh YS et al. Effects of silymarin on the resolution of liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *J Viral Hep* 2008; 15: 508-514.
41. Brandon-Warner E, Sugg JA, Schrum LW, McKillop IH. Silibinin inhibits ethanol metabolism and etanol dependent cell proliferation in an *in vitro* model of hepatocellular carcinoma. *Cancer Letters* 2010; 291: 120-129.
42. Eminzade S, Uraz F, Izzettin FV. Silymarin protects against toxic effects of anti-tuberculosis drugs in experimental animals. *Nut Metab (Lond)* 2008; 5: 18.
43. Ramellini G, Meldolesi J. Liver protection by silymarin: *in vitro* effect on dissociated rat hepatocytes. *Arzneimittelforschung* 1976; 26: 69-73.
44. Desplaces A, Choppin J, Vogel G, Trost W. The effects of silymarin on experimental phalloidine poisoning. *Arzneimittelforschung* 1975; 25: 89-96.
45. Soto C, Mena R, Luna J, Cerbón M, Larrieta E, Vital P et al. Silymarin induces recovery of pancreatic function after alloxan damage in rats. *Life Sci* 2004; 75: 2167-2180.
46. Von Schönfeld J, Weisbrod B, Müller MK. Silibinin, a plant extract with antioxidant and membrane stabilizing properties, protects exocrine pancreas from cyclosporine A toxicity. *Cell mol life sci* 1997; 53: 917-920.
47. Matsuda T, Ferreri K, Todorov I, Kuroda Y, Smith CV, Kanadeel F et al. Silymarin protects pancreatic beta-cells against cytokine-mediated toxicity: implication of c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase and janus kinase/signal transducer and activator of transcription pathways. *Endocrinology* 2005; 146: 175-185.
48. Shaker E, Mahmoud H, Mnaa S. Silymarin, the antioxidant component and Silybum marianum extracts prevent liver damage. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 803-806.
49. Ka SO, Kim KA, Kwon KB, Park JW, Park BH. Silibin attenuates adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes through a potential up regulation of the insight pathway. *Int J Mol Med* 2009; 23 (5): 633-637.
50. Haddad Y, Vallerand D, Brault A, Haddad PS. Antioxidant and hepatoprotective effects of silibin in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Evid Based Complement Alternat Med* 2009; 1-11.
51. Polyak SJ, Morishima C, Shuhart MC, Wang CC, Liu Y, Lee DY. Inhibition of T-cell inflammatory cytokines, hepatocyte NF-kappaB signaling, and HCV infection by standardized Silymarin. *Gastroenterology* 2007; 132: 1925-1936.
52. 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; 138: 671-681.
53. Wagoner J, Negash A, Kane OJ, Martinez LE, Nahmias Y, Bourne N et al. Multiple effects of silymarin on the hepatitis C virus life cycle. *Hepatology* 2010; 51 (6): 1912-1921.
54. Polyak SJ, Morishima C, Lohmann V, Pal S, Lee DY, Liu Y et al. Identification of hepatoprotective flavonolignans from silymarin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107 (13): 5995-5999.
55. Ahmed-Belkacem A, Ahnou N, Barbotte L, Wychowski C, Paliogi C, Brillet R et al. Silibinin and related compounds are direct inhibitors of hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. *Gastroenterology* 2010; 138: 1112-1122.
56. 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. Update of Cochrane Database Syst Rev 2005; (2): CD003620
57. Loguercio C, Federico A, Trappoliere M, Tuccillo C, de Sio I, Di Leva A et al. Real Sud Group. The effect of a silbin-vitamin E-phospholipid complex on nonalcoholic fatty liver disease: a pilot study. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 2387-2395.
58. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=silymarin>
59. Fraschini F, Demartini G, Esposti D. Pharmacology of silymarin. *Clin Drug Invest* 2002; 22 (1): 51-65.
60. Dixit N, Baboota S, Kohli Ahmad S, Ali J. Silymarin: A review of pharmacological aspects and bioavailability enhancement approaches. *Indian J Pharmacol* 2007; 39 (4): 172-179.
61. Shord SS, Shah K, Lukose A. Drug botanical interactions: a review of the laboratory, animal, and human data for 8 common botanicals. *Integr Cancer Ther* 2009; 8: 208-227.
62. Wu JW, Lin LC, Tsai TH. Drug-drug interactions of silymarin on the perspective of pharmacokinetics. *J Ethnopharmacology* 2009; 121: 185-193.
63. Lykkesfeldt J, Hagen TM, Vinarsky V, Ames BN. Age associated decline in ascorbic acid concentration, recycling and biosynthesis in rat hepatocytes-reversal with R-alpha-lipoic acid supplementation. *FASEB J* 1998; 12: 1183-1189.
64. Shay KP, Moreau RF, Smith EJ, Smith AR, Hagen TM. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochem Biophys Acta* 2009; 1790: 1149-1160.
65. Marshall AW, Graul RS, Morgan MY, Sherlock S. Treatment of alcohol-related liver disease with thioctic acid: a six month randomized double-blind trial. *Gut* 1982; 23: 1088-1093.
66. Ziegler D, Hanefeld M, Ruhnau KJ, Meissner HP, Lobisch M, Schütte K et al. Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the antioxidant alpha lipoic acid: a two year multicenter randomized controlled trial (ALADIN study). *Diabetologia* 1995; 38: 1425-1433.
67. Brown KM, Arthur JR. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr* 2001; 4 (2B): 593-599.
68. Arthur JR, Brown KM, Fairweather-Tait SJ, Crews HM. Dietary selenium; why do we need it and how much is enough? *Nutr Food Sci* 1997; 6: 225-228.

69. Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra WG. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 1973; 179: 588-590.
70. Ursini F, Maiorino M, Gregolin C. The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta* 1985; 839: 62-70.
71. Stewart S, Prince M, Bassendine M, Hudson M, James O, Jones D et al. A randomized trial of antioxidant therapy alone or with corticosteroids in acute alcoholic hepatitis. *J Hepatol* 2007; 47: 277-283.
72. Berkson BM. A conservative triple antioxidant approach to the treatment of hepatitis C. Combination of alpha lipoic acid (thioctic acid), silymarin, and selenium: three case stories. *Med Klin (Munich)*. 1999; 94 (Suppl 3): 84-89.