(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 749 192**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/357 (2006.01)
A61P 3/08 (2006.01)
A61P 5/48 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.03.2014 PCT/EP2014/055499**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **25.09.2014 WO14147119**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.03.2014 E 14718921 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2019 EP 2976075**

(54) Título: **Silibina para el tratamiento de las alteraciones oxidativas metabólicas en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica (EHNA)**

(30) Prioridad:

20.03.2013 IT MI20130425

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.03.2020

(73) Titular/es:

ISTITUTO BIOCHIMICO ITALIANO GIOVANNI LORENZINI S.P.A. (100.0%)
Via Fossignano 2
04011 Aprilia, IT

(72) Inventor/es:

LOGUERCIO, CARMELINA;
FEDERICO, ALESSANDRO y
STIUSO, PAOLA

(74) Agente/Representante:

RUO , Alessandro

ES 2 749 192 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Silibina para el tratamiento de las alteraciones oxidativas metabólicas en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica (EHNA)

Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a una composición que comprende silibina para el tratamiento de alteraciones oxidativas metabólicas en la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

Antecedentes de la invención

[0002] Estrés oxidativo, peroxidación lipídica, terapia antioxidante, estos términos son muy comunes en la bibliografía y en la práctica clínica diaria en los últimos años. De hecho, en la patogénesis de diversas enfermedades, incluido el cáncer, a menudo se pone un énfasis considerable en la formación de radicales libres y su atrapamiento por sustancias antioxidantes.

[0003] En humanos, se ha proporcionado evidencia clara de que un aumento en los marcadores de daño oxidativo circulantes es una expresión de patología orgánica.

[0004] Entre los marcadores de estrés oxidativo considerados expresión de la patología de varios órganos y sistemas, el aumento de los productos de la peroxidación lipídica juega un papel destacado. Los marcadores de peroxidación lipídica en la circulación están presentes en muchas afecciones patológicas como expresión de la peroxidación de las membranas celulares. Entre varias enfermedades, seguramente el síndrome metabólico, pero también la enfermedad hepática crónica y las etapas avanzadas de muchos tipos de cáncer, representan situaciones patognomónicas de enfermedades crónicas, en las cuales el estrés oxidativo juega un papel clave. La esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) es la manifestación hepática del síndrome metabólico. La esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) es un tipo de daño crónico al hígado que se incluye entre las enfermedades metabólicas y representa la progresión inflamatoria degenerativa de la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA).

[0005] La presencia del síndrome metabólico o de uno o más componentes de este síndrome (es decir, obesidad visceral, hipertensión, hipertrigliceridemia, hiperglucemia en ayunas) aumenta en gran medida el riesgo de progresión de la esteatosis hepática no alcohólica a esteatohepatitis (EHNA). De hecho, la EHNA casi siempre está presente en pacientes con síndrome metabólico y afecta a su morbilidad y mortalidad.

[0006] Se establece a través de varias etapas que implican la modulación de una gran cantidad de genes y proteínas, a partir de un tráfico alterado de lípidos entre la periferia (tejido adiposo) y el hígado, con acumulación final de ácidos grasos en el hígado, peroxidación de lípidos intrahepáticos y circulantes, que inducen, a través del estrés oxidativo, inflamación y muerte de los hepatocitos, hasta desencadenar fenómenos reparativos, como la fibrosis y la cirrosis. En la actualidad, no se han aprobado agentes farmacológicos para el tratamiento del síndrome metabólico, en particular para el tratamiento de la EHNA. En este último caso, se intentó un tratamiento a largo plazo con agentes sensibilizadores de insulina o con altas dosis de vitamina E, sin resultados definitivos.

[0007] Si bien el uso de productos naturales está aumentando en todo el mundo, también se sabe que su uso no siempre es seguro y efectivo. Se ha demostrado que los pacientes con enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) responden positivamente cuando se les somete a una administración crónica de silibina. En particular, se ha demostrado que el tratamiento de pacientes con EHGNA con silibina mejora los niveles de transaminasas, la resistencia a la insulina y la histología hepática. La EHNA se caracteriza, histológicamente, por una inflamación crónica y fibrosis temprana, en comparación con otras enfermedades hepáticas crónicas incluidas en la EHGNA.

[0008] El objeto de la presente invención es proporcionar un tratamiento del síndrome metabólico, cuando se asocia a EHNA.

Sumario de la invención

[0009] Los inventores de la presente invención han identificado entre los pacientes con síndrome metabólico, cuando está asociado con EHNA, un grupo de pacientes que presentan una alteración del perfil lipidómico asociado con altos valores de SRATB en suero, y han descubierto sorprendentemente que el tratamiento con una composición que incluye silibina permite la normalización de dicho perfil lipidómico, teniendo así efectos en el tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica.

[0010] Por lo tanto, la invención se refiere a una composición para su uso en el tratamiento de alteraciones oxidativas metabólicas en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), en la que dicha composición comprende silibina, y en la que el tratamiento se administra a pacientes que tienen un perfil lipidómico alterado de acuerdo con las reivindicaciones.

[0011] En la presente invención, cuando se usa la definición “perfil lipidómico alterado”, se entiende el perfil lipidómico de un paciente con síndrome metabólico, preferiblemente también con EHNA, que es positivo para el ensayo de SRATB, que muestra específicamente valores altos de SRATB en el ensayo de SRATB ((Sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (SRATB)). El ensayo de las SRATB mide en una muestra de suero de un paciente las SRATB, es decir, los subproductos generados por un proceso de peroxidación lipídica, mediante el uso de ácido barbitúrico (Armstrong, D., and Browne, R. The analysis of free radicals, lipid peroxides, antioxidant enzymes and compounds to oxidative stress as applied to the clinical chemistry laboratory. Free Radicals in Diagnostic Medicine 366, 43-58 1994). En la presente invención, cuando se afirma que están presentes niveles altos de SRATB o niveles bajos de SRATB, se entiende que los valores encontrados en el ensayo de SRATB son más altos o más bajos que los observados en sujetos sanos. En la presente invención, al referirse a valores promedio de SRATB en sujetos sanos, se entienden valores promedio de aproximadamente 0,01 ± 0,002 µM/µg prot (µM de SRATB con respecto a µg de proteínas plasmáticas).

[0012] Por lo tanto, los inventores de la presente invención han identificado un grupo específico de pacientes con síndrome metabólico y también con EHNA, que tienen una alteración del perfil lipidómico sérico y que responden al tratamiento con una composición que comprende silibina. El grupo de pacientes identificados por los inventores en el grupo de pacientes con síndrome metabólico que también tienen EHNA, tienen un perfil lipidómico asociado con una peroxidación lipídica alterada (valores altos de SRATB) que lo distingue del grupo de pacientes con síndrome metabólico que tienen también EHNA, los cuales, en condiciones básicas, no muestran altos niveles de marcadores de la peroxidación lipídica circulantes (SRATB). Los dos grupos de pacientes no se superponen de ninguna manera basándose en los valores de SRATB determinados por el ensayo de SRATB, como será evidente en la sección experimental a continuación. Al finalizar el tratamiento con la composición que incluye silibina, el grupo de pacientes de la invención mostró una normalización del perfil lipidómico sérico, con la correspondiente disminución de los valores de SRATB en el ensayo de SRATB, confirmando el tratamiento del estrés oxidativo típico de la patología EHNA.

[0013] La invención se describirá ahora en detalle y con referencia a las siguientes figuras.

Descripción de las figuras

[0014]

La Figura 1 incluye gráficos de espectroscopía de masas de un grupo de muestras de suero del grupo de control (CTR) (a)), el primer grupo de pacientes con EHNA en el tiempo cero (TO, Grupo 1) (b)) y el segundo grupo de pacientes con EHNA en el tiempo cero (TO, Grupo 2) (c)).

La Figura 2 incluye los gráficos de la espectroscopía de masas de un grupo de muestras de suero del primer grupo de pacientes con EHNA después de 12 meses de tratamiento (T12) con la composición de la invención (Grupo 1) (b)) y el segundo grupo de pacientes con EHNA después de 12 meses de tratamiento (T12) con la composición de la invención (Grupo 2) (c)).

Descripción detallada de la invención

[0015] Por lo tanto, la invención se refiere a una composición para su uso en el tratamiento de alteraciones oxidativas metabólicas en la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), y en la que dicha composición comprende silibina, y en la que el tratamiento se administra a pacientes que tienen un perfil lipidómico alterado caracterizado por un valor SRATB mayor que el de los sujetos sanos como se define en las reivindicaciones.

[0016] El grupo de pacientes que tienen el “perfil lipídico alterado” muestran un valor elevado de SRATB en el ensayo de SRATB con respecto a los sujetos sanos. El ensayo de SRATB detecta las sustancias reactivas al ácido barbitúrico, que se forman como subproductos de la peroxidación lipídica. Por lo tanto, los niveles de SRATB representan un marcador de la peroxidación lipídica. Un paciente que tiene el síndrome metabólico que también tiene EHNA, que es positivo para el ensayo de SRATB, muestra valores altos de SRATB en el ensayo de SRATB, es decir, una gran cantidad de subproductos de la peroxidación lipídica de las membranas celulares están presentes en el suero del paciente.

[0017] Por lo tanto, los inventores de la presente invención han identificado un subgrupo de pacientes con el síndrome metabólico que también tienen EHNA, que tienen una alteración del perfil lipidómico y que responden al tratamiento con una composición que comprende silibina.

[0018] La composición de la invención comprende silibina, preferiblemente formando un complejo con fosfatidilcolina. La silibina utilizada en la invención puede estar en forma de un extracto de *Silybum marianum*, es decir, cardo mariano. Se sabe que los extractos de cardo mariano se pueden valorar con silibina o silimarina, en la invención se pueden usar todos estos extractos. Se prefieren extractos de cardo mariano, con un título de silibina en el intervalo del 20 al 90 %, más preferiblemente del 30 al 70 %. Incluso más preferiblemente, la composición de la invención comprende un extracto de *Silybum marianum* con un título del 33 % de silibina.

[0019] De acuerdo con la invención, la composición comprende preferiblemente vitamina E.

[0020] Ventajosamente, la composición de la invención incluye un extracto de cardo mariano, formando un complejo con fosfatidilcolina y acetato de vitamina E.

[0021] La composición de la invención comprende también excipientes adecuados para la preparación de una formulación farmacéutica.

[0022] Preferiblemente, de acuerdo con la invención, la dosis diaria de silibina está en el intervalo de 150 a 300 mg/día, siendo aún más preferible una dosis de aproximadamente 200 mg/día de silibina.

[0023] El grupo de pacientes con síndrome metabólico que también tienen EHNA e identificados en el tratamiento de acuerdo con la invención, por lo tanto, tienen un perfil lipidómico alterado, que se normalizan con la composición de la invención, como será evidente a partir de la parte experimental que sigue.

Ejemplo 1

Preparación de la composición utilizada en la invención

[0024] Se añadió silibina en forma de extracto de cardo mariano formando un complejo con fosfatidilcolina al acetato de vitamina E en las cantidades indicadas en la Tabla 1:

Tabla 1

Composición	mg
Sacarina	2491,36
Carragenina	60,00
Maltodextrina	200,00
Extracto de cardo mariano formando un complejo con fosfatidilcolina (silibina 47,52 mg y fosfatidilcolina 96,48 mg)	144,00
Acetato de vitamina E 50 %	44,64*
Sabores	60,00
Peso total	3000,00
* igual a 15 mg de Vit E	

[0025] La composición así obtenida se administró a los pacientes en forma de bolsitas de composición en polvo.

Ejemplo 2

Identificación de los dos grupos de pacientes

[0026] Reclutamos a 20 pacientes afectados por síndrome metabólico y esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). También reclutamos a 20 sujetos sanos, que formaron el grupo de control. El suero de 20 pacientes se evaluó en condiciones basales y después de 12 meses de tratamiento con la composición de la invención, realizando el ensayo de SRATB. A continuación, se evaluó el nivel de SRATB, es decir, el nivel de sustancias reactivas como subproductos de la peroxidación lipídica de las membranas celulares en el suero de los 40 sujetos.

[0027] El análisis realizado en el suero de estos pacientes mostró la presencia de dos grupos distintos de pacientes (Tablas 2 y 3). 11 de los 20 pacientes que participaron en el estudio pertenecían al grupo 1 y 9 pertenecían al grupo 2, según los valores de SRATB encontrados y mostrados en la Tabla 2 ya divididos en dos grupos. La Tabla 2 también muestra los valores de SRATB medidos en pacientes no solo en el tiempo cero (TO), sino incluso después de 12 meses de tratamiento (T12).

Tabla 2. Valores de SRATB (μM/μg prot.) medidos en el suero de los pacientes con síndrome metabólico y EHNA que pertenecen al grupo 1 (n=11) y al grupo 2 (n=9). SRATB = sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico.

Grupo 1	Pacientes										
SRATB T0	0,0046	0,0041	0,0047	0,0042	0,0043	0,005	0,0039	0,0044	0,0047	0,0041	0,0042
SRATB T12	0,0213	0,0219	0,021	0,023	0,0199	0,0203	0,0229	0,0225	0,022	0,019	0,024
Grupo 2	Pacientes										
SRATB T0	0,067	0,0818	0,076	0,074	0,07	0,0731	0,083	0,0681	0,076		
SRATB T12	0,047	0,0430	0,049	0,05	0,049	0,0412	0,045	0,051	0,0509		

[0028] La Tabla 3 muestra el promedio de los niveles de SRATB medidos en el tiempo cero (T0) y después de 12 meses de tratamiento para los grupos 1 y 2 de los pacientes y el promedio de los valores de SRATB en el grupo de control (CTR). En el momento T0, el grupo 1 mostró valores de SRATB inferiores a los valores del grupo de control, en comparación con lo encontrado en el grupo 2, en el que los pacientes mostraron valores de SRATB más altos que el grupo de control.

Tabla 3. Valores séricos de SRATB (µM/µg prot.) en los dos grupos de pacientes con EHNA

	Grupo 1	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 2	CTR
Parámetros	T0	T12	T0	T12	
SRATB	0,0044±0,0003	0,021±0,001	0,074±0,006	0,047±0,004	0,01±0,002

[0029] El primer grupo de pacientes (Grupo 1) en condiciones basales mostró un valor de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (SRATB) más bajo en comparación con los valores de control. En este grupo, después del inicio del tratamiento con la composición de la invención, los niveles de SRATB aumentaron inmediatamente, pero estos valores volvieron a los valores normales al final del tratamiento, después de 12 meses.

[0030] El segundo grupo (Grupo 2) mostró un valor muy alto de SRATB en condiciones basales, en comparación con el valor promedio del control. En estos pacientes, el tratamiento con la composición de la invención redujo significativamente el nivel promedio de SRATB ($p < 0,01$). Dentro del grupo de 20 pacientes con síndrome metabólico y EHNA, estaban realmente presentes dos grupos de pacientes, que diferían en los niveles de SRATB en la condición basal, el grupo 1 tenía valores bajos en el tiempo 0 y el segundo, por el contrario, tenía valores altos (en comparación con el grupo de control de sujetos sanos), acercándose a los valores del grupo de control después de 12 meses de tratamiento.

[0031] Los dos grupos de pacientes se caracterizaron a continuación tanto en el tiempo cero como después de 12 meses de tratamiento con la composición de la invención (Tabla 4). Todos los pacientes del grupo 1 tenían un índice de masa corporal (IMC), insulina e índice HOMA (Evaluación del modelo de homeostasis - un indicador de resistencia a la insulina) que no cambió después de 12 meses de tratamiento, solo la glucemia en la sangre del grupo 1 disminuyó en comparación al valor basal ($p < 0,05$). Por el contrario, en el grupo 2, el IMC, la insulinemia y el índice HOMA se redujeron significativamente ($p < 0,0001$) después del tratamiento, mientras que la glucemia en la sangre permaneció normal después de 12 meses, como en el momento de la condición basal (T0).

Tabla 4. Valores promedio de parámetros metabólicos para los dos grupos de pacientes en la condición basal (T0) y después de 12 meses de tratamiento con la composición de la invención (T12).

	Grupo 1		Grupo 2	
Parámetros	**T0**	**T12**	**T0**	**T12**
IMC	**30±1,86**	**30±1,8**	**28±0,50**	**26±0,50*** **
Glucemia	**116±10**	**105±8,2***	**99±2,15**	**99±2**
Insulina	**18±2,26**	**17±3,77**	**23±4,34**	**14±1,9*** **
HOMA	**5±1**	**4,5±1,07**	**5,97±0,6**	**3,43±0,5*** **

* $p<0,05$, ** $p<0,005$; *** $p<0,0001$

[0032] Por lo tanto, los pacientes en el Grupo 1 que en el momento de la condición basal tenían valores SRATB más bajos en comparación con el grupo de control, no mostraron cambios después del tratamiento con la composición de la invención, en contraposición a los pacientes del Grupo 2 que tenían valores SRATB altos en comparación con los controles, que respondieron al tratamiento con silibina en la composición.

[0033] Por lo tanto, el uso de la composición de la invención redujo el índice de masa corporal, la insulina y la resistencia a la insulina (HOMA) del único Grupo 2, determinando así un tratamiento del síndrome metabólico y EHNA solo para este grupo de pacientes.

Ejemplo 3

Normalización del perfil lipidómico del grupo 2

[0034] Los 20 pacientes con síndrome metabólico y esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), divididos en dos grupos como se muestra en el Ejemplo 2, fueron tratados con la composición de la invención durante 12 meses a una dosis de 4 sobres/día.

[0035] En el suero de 20 pacientes con síndrome metabólico y EHNA y 20 sujetos sanos en el grupo de control, el análisis lipidómico se realizó mediante espectroscopía de masas MALDI-TOF. Las especies lipidómicas estudiadas en el análisis, correspondientes a los picos principales fueron:

Liso: lisofosfatidilcolina, que puede tener diferentes combinaciones de ácidos grasos con diferentes longitudes y saturaciones unidas en la posición C-1.
liso FC 16:0:lisofosfatidilcolina con ácido palmítico
liso FC 18:2 lisofosfatidilcolina con ácido linoleico
liso FC 18:1 lisofosfatidilcolina con ácido oleico
liso FC 18:0 lisofosfatidilcolina con ácido esteárico
EM: esfingomielina
FC: fosfatidilcolina, que puede tener diferentes combinaciones de ácidos grasos con diferentes longitudes y saturaciones unidas en las posiciones C-1 y C2.
FC 16:0/18:2 fosfatidilcolina, que tiene una cadena de ácido palmítico en la posición C-1 y una cadena de ácido linoleico en la posición C2
FC 16:0/18:1 fosfatidilcolina, que tiene una cadena de ácido palmítico en la posición C-1 y una cadena de ácido oleico en la posición C2
FC 18:1/18:2 fosfatidilcolina, que tiene una cadena de ácido oleico en la posición C-1 y una cadena de ácido linoleico en la posición C2
FC 18:0/18:2 fosfatidilcolina, que tiene una cadena de ácido esteárico en la posición C-1 y una cadena de ácido linoleico en la posición C2
FC 18:1/18:1 fosfatidilcolina, que tiene una cadena de ácido oleico en la posición C-1 y una cadena de ácido oleico en la posición C2
FC 18:2/18:2 fosfatidilcolina, que tiene una cadena de ácido oleico en la posición C-1 y una cadena de ácido linoleico en la posición C2
FC 18:0/18:2 fosfatidilcolina, que tiene una cadena de ácido esteárico en la posición C-1 y una cadena de ácido linoleico en la posición C2
FC 18:1/20:4 fosfatidilcolina, que tiene una cadena de ácido oleico en la posición C-1 y una cadena de ácido araquidónico en la posición C2
FC 18:0/20:4 fosfatidilcolina, que tiene una cadena de ácido esteárico en la posición C-1 y una cadena de ácido araquidónico en la posición C2
FC 18:0/20:3 fosfatidilcolina, que tiene una cadena de ácido esteárico en la posición C-1 y una cadena de ácido homo-g-linolénico en la posición C2.

[0036] A continuación se combinó suero de pacientes, es decir, se combinó suero de pacientes pertenecientes al grupo 1 y se combinó suero de pacientes del grupo 2. También se combinó suero de los sujetos pertenecientes al grupo de control. El suero combinado se recogió y analizó antes del tratamiento y después del tratamiento. Para cada suero combinado se elaboraron gráficos de espectrometría de masas MALDI-TOF de extractos orgánicos obtenidos de los sueros de los propios pacientes.

[0037] La Figura 1 muestra los siguientes gráficos: espectrograma a. muestra el perfil lipidómico del suero combinado de sujetos normales (grupo control), el espectrograma b. muestra el perfil lipidómico del suero combinado de pacientes pertenecientes al grupo 1 y el espectrograma c. muestra el perfil lipidómico del suero combinado de pacientes pertenecientes al grupo 2 (en el tiempo 0).

[0038] Como se aprecia en la Figura 1, ambos pacientes del Grupo 1 y el Grupo 2 tenían un perfil lipídico diferente del perfil del grupo control. Específicamente, todas las especies probadas estaban presentes en el suero de pacientes en cantidades inferiores a las cantidades de los sujetos de control (los experimentos se repitieron tres veces).

[0039] Los dos grupos de pacientes fueron sometidos a un tratamiento con la composición de la invención. Después de 12 meses de tratamiento con 4 sobres/día, se analizaron los sueros combinados de los pacientes, de los cuales se registró nuevamente el espectro de masas. La Figura 2 muestra el espectro de masas del suero combinado de los mismos pacientes del grupo 1 y del grupo 2 de la Figura 1, pero después de 12 meses de tratamiento con silibina.

[0040] Como se aprecia en la Figura 2, el espectro del suero combinado de los pacientes del Grupo 1 mostró que la cantidad de especies lipídicas detectadas todavía era baja, como en el tiempo cero, y de hecho para algunas especies, la cantidad disminuyó más.

[0041] Por el contrario, el perfil lipidómico en el Grupo 2 en T12 (que se muestra en la Figura e)) resultó más similar al del grupo de control, lo que demuestra que se había producido una normalización del perfil lipidómico, como se probó después del tratamiento con la composición de la invención.

[0042] La intensidad de los valores de la espectrometría de masas se normalizó y los valores se muestran en la Tabla 5 a continuación:

Tabla 5

m/z (MH^+)	Identidad	CTR	Grupo 1		Grupo 2	
			T_0	T_{12}	T_0	T_{12}
496,36	liso FC 16:0	100	100	100	100	100
369,37	CL ($-H_2O$)(H^+)	68	35	16	15	41
520,4	liso FC 18:2	37	12	2	11	9
522,41	liso FC 18:1	30	18	17	17	15
524,37	liso FC 18:0	31	32	30	30	59
703,5	EM 16:0	20	5	1	8	18
758,65	FC 16:0/18:2	104	21	8	19	64
760,51	FC 16:0/18:1 (H^+)	42	24	13	8	27
784,66	FC 18:1/18:2	43	13	5	9	34
786,53 #	FC 18:0/18:2 (H^+)/ FC 18:1/18:1 (H^+)	40	9	4	6	18
804,52	FC 18:2/18:2 (Na^+)	9	2	1	2	10
808,55 #	FC 18:0/18:2 (Na^+)/ FC 18:1/20:4 (H^+)	19	3	9	5	19
810,55	FC 18:0/20:4	25	5	3	5	18
812,62	FC 18:0/20:3	12	5	22	3	16

 # La identificación no es única, el peso molecular se puede atribuir a dos identidades posibles
CL = colesterol libre
liso FC = lisofosfatidilcolina
FC = fosfatidilcolina
EM = esfingomielina

[0043] Por lo tanto, los datos normalizados confirmaron lo que se podía ver en las cifras. En pacientes con EHNA del grupo 2, se pudieron encontrar niveles circulantes aumentados de colesterol libre, esfingomielina y fosfatidilcolina después de 12 meses de tratamiento. Las intensidades de estas especies fueron bajas en condiciones basales y volvieron a los valores de control después del tratamiento con la composición, incluida la silibina. Además, los datos del análisis lipidómico muestran que en el grupo de pacientes con valores altos de SRATB (Grupo 2) el tratamiento con la composición que incluye silibina indujo una mejora en la proporción de fosfatidilcolina/ácido araquidónico. Como es bien sabido, la esfingomielina se sintetiza en la luz del aparato de Golgi, y luego es transportada a nivel de la membrana celular por portadores específicos. La esfingomielina tiene una alta afinidad por el colesterol, con el que se une a nivel de la membrana celular. Sin limitarse a ninguna teoría, basándose en los datos anteriores, los inventores de la presente invención suponen, por lo tanto, que el tratamiento de acuerdo con la invención cataliza la liberación de esfingomielina y colesterol circulante libre, a través de un aumento en la relación de lisofosfatidilcolina, que tiene una acción “tipo detergente” en las membranas.

[0044] Para reducir el error experimental, se llevaron a cabo varias veces la extracción de lípidos y el análisis del perfil lipidómico con espectrometría de masas del grupo de pacientes del grupo 1, grupo 2 y el grupo control, obteniendo así resultados que podrían superponerse a los descritos anteriormente, lo que confirma que el perfil lipidómico de los pacientes en el grupo 2 se normalizó.

[0045] Por lo tanto, los resultados obtenidos del análisis lipidómico, cuando se suman a las reducciones de la insulinemia y la resistencia a la insulina (ver Tabla 3 del Ejemplo 2), muestran que solo en los pacientes con síndrome metabólico y EHNA del Grupo 2, la composición que incluye silibina interfiere con el metabolismo celular intermedio relacionado con la oxidación de los lípidos, disminuyendo el estrés oxidativo típico del síndrome metabólico y la EHNA y, por lo tanto, teniendo el tratamiento solo efectos en este grupo específico de pacientes.

REIVINDICACIONES

1. Una composición para su uso en el tratamiento de alteraciones oxidativas metabólicas en la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), en la que dicha composición comprende silibina y el uso es en el tratamiento de pacientes que tienen un perfil lipidómico alterado y en el que los pacientes que tienen el perfil lipidómico alterado muestran un valor elevado de SRATB en la prueba de SRATB con respecto a sujetos sanos, en el que dichos sujetos sanos muestran un valor de SRATB de 0,01 ± 0,002 µm/µg prot.

2. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el tratamiento consiste en la normalización del perfil lipidómico de pacientes que tienen un perfil lipidómico alterado.

3. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que la composición incluye silibina formando un complejo con fosfatidilcolina.

4. La composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la silibina está en forma de un extracto de *Silybum marianum*, es decir, cardo mariano.

5. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en la que el título de silibina del extracto de cardo mariano está en el intervalo del 20 al 90 %, más preferiblemente del 30 al 70 %.

6. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en la que la composición de la invención incluye un extracto de cardo mariano con un título de silibina del 33 %.

7. La composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la composición incluye vitamina E.

8. La composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que los pacientes que tienen un perfil lipidómico alterado después del tratamiento tienen valores de IMC, HOMA e insulina inferiores a la condición basal.

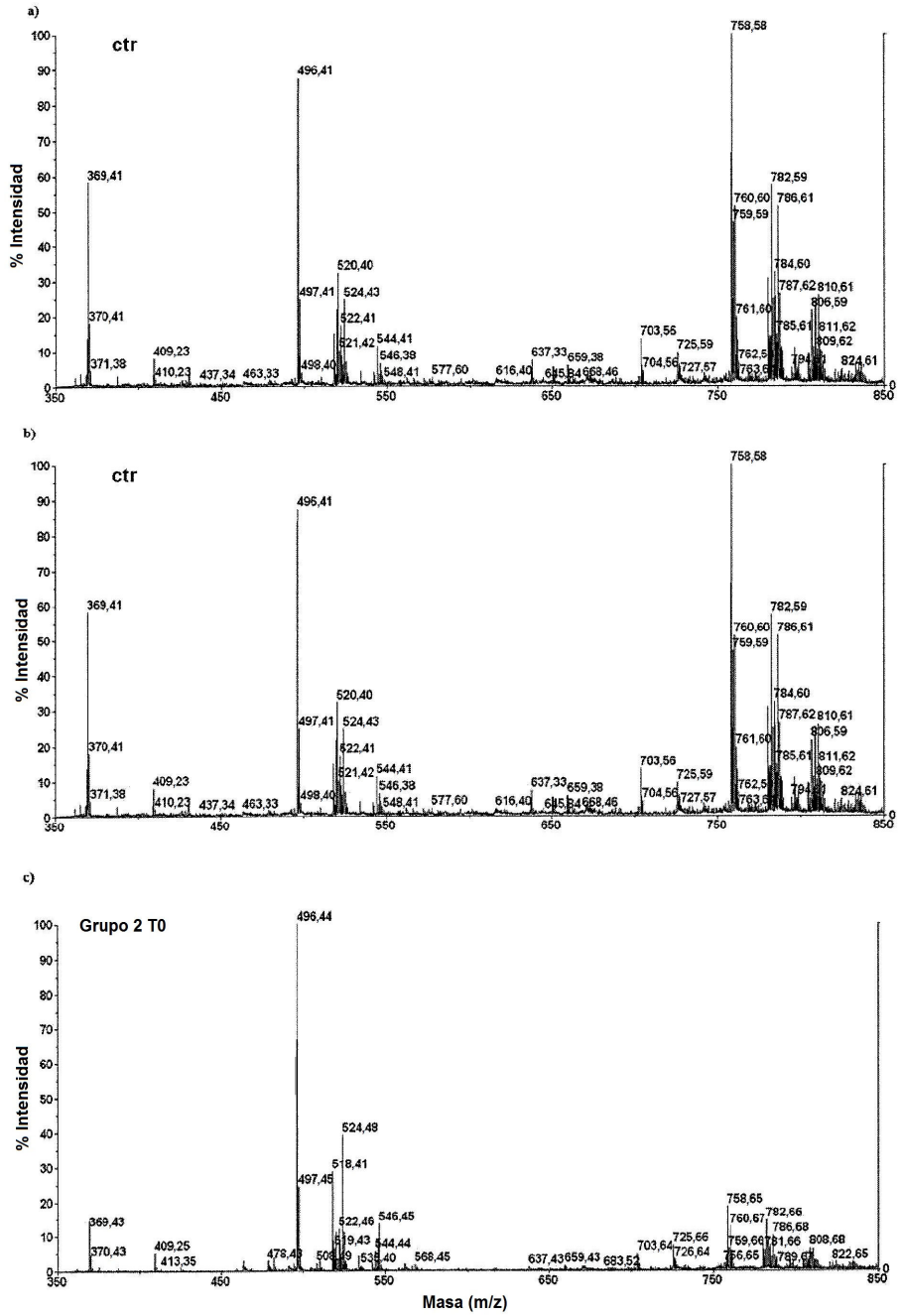
a)
ctr
% Intensidad
758,58
496,41
369,41
782,59
760,60
786,61
759,59
520,40
784,60
497,41
524,43
787,62
810,61
806,59
370,41
522,41
761,60
785,61
811,62
544,41
703,56
725,59
521,42
546,38
637,33
659,38
809,62
409,23
371,38
410,23
437,34
463,33
498,40
548,41
577,60
616,40
668,46
704,56
727,57
762,5
763,6
824,61
b)
ctr
% Intensidad
758,58
496,41
369,41
782,59
760,60
786,61
759,59
520,40
784,60
497,41
524,43
787,62
810,61
806,59
370,41
522,41
761,60
785,61
811,62
544,41
703,56
725,59
521,42
546,38
637,33
659,38
809,62
409,23
371,38
410,23
437,34
463,33
498,40
548,41
577,60
616,40
668,46
704,56
727,57
762,5
763,6
824,61
c)
Grupo 2 T0
% Intensidad
496,44
524,48
518,41
497,45
758,65
760,67
782,66
786,68
522,46
546,45
369,43
519,43
544,44
370,43
409,25
413,35
478,43
568,45
637,43
659,43
683,51
703,64
725,66
726,64
759,66
781,66
808,68
822,65
Masa (m/z)

Figura 1

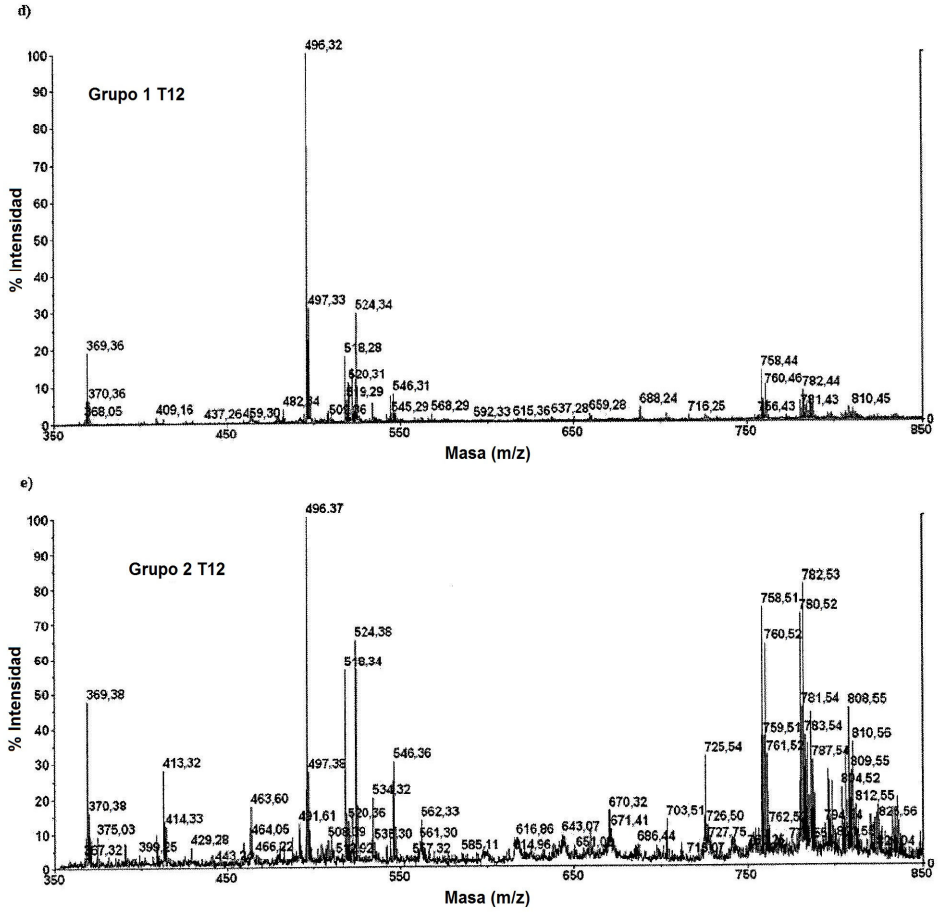
d)
Grupo 1 T12
% Intensidad
Masa (m/z)
496,32
497,33
524,34
369,36
370,36
368,05
409,16
437,26
459,30
482,34
518,28
520,31
519,29
546,31
545,29
568,29
592,33
615,36
637,28
659,28
688,24
716,25
758,44
760,46
782,44
781,43
810,45
e)
Grupo 2 T12
% Intensidad
Masa (m/z)
496.37
524,38
518,34
369,38
413,32
370,38
375,03
414,33
429,28
463,60
464,05
466,22
497,38
546,36
534,32
562,33
561,30
585,11
616,86
643,07
670,32
671,41
686,44
703,51
725,54
726,50
727,75
758,51
760,52
782,53
780,52
781,54
808,55
759,51
761,52
783,54
787,54
810,55
809,55
812,55

Figura 2