



PROCOLO VITA DEYUN RESULTADOS

**Determinación de la eficacia de la silimarina
como coadyuvante en el manejo de la progresión
de la enfermedad COVID-19 en Hospitales de los
Servicios de Salud de Hidalgo**

REPORTE DE RESULTADOS PROTOCOLO VITA DEYUN

Título del estudio de investigación

Determinación de la eficacia de la silimarina como coadyuvante en el manejo de la progresión de la enfermedad COVID-19 en Hospitales de los Servicios de Salud de Hidalgo.

Lugar donde se desarrolló el estudio de investigación

Hospital de Respuesta Inmediata COVID-19 de los Servicios de Salud de Hidalgo en Pachuca, Actopan y Tulancingo

Dr. Alejandro Efraín Benítez Herrera

Director de los Servicios de Salud de Hidalgo y
Secretario de Salud

Coordinación del estudio:

MAHySP Alberto Xithe Maxtha,¹ Director General

Dr. en C. Alfonso Atitlán Gil,¹ Director de Gestión del Conocimiento

Personal participante:

Corona González,² Médico de Atención COVID-19

MAHySP Francisco Díaz de León Fernández,² Director

M.E.C.G. Jesús Alberto Alamilla Huebe,³ Director

M.G. Juan José Jiménez Hernández,⁴ Director

Esp M. I. Ricardo Daniel Corona,² Médico de atención COVID-19

B. Héctor Alberto Villafuentes Téllez,⁵ Director

M.G. Víctor Hugo Morales Arguelles¹, Director de Análisis y Transferencia de Información

M.G. Eduardo Uhthoff Vázquez¹, Subdirector de Planeación y Seguimiento

Q.B. Cresle Alejandra Espino Domínguez,² Jefa de laboratorio

M.G. Víctor Hugo Zamora Roa,² Coordinador de Epidemiología

T.L. Víctor García Salas,³ Jefe de laboratorio

M.R.U. Verá Hernández García,³ Médico de Atención COVID-19

M.G. Batsi Carolina Arteaga Escudero,⁴ Coordinadora de Epidemiología

Q.F.B. Blanca Hortencia Ponce Sosa,⁴ Jefa de laboratorio

M.E.E. Hilario Corona Martínez,⁴ Coordinador de Epidemiología

I.B.Q. Connie Alejandra Herrera Gómez,⁵ Jefa del Área de Biología Molecular

¹Dirección General de Proyectos Estratégicos de Salud - Secretaría de Salud de Hidalgo, Pachuca. Hidalgo, México.

²Hospital de Respuesta Inmediata Pachuca - Servicios de Salud de Hidalgo. Pachuca, Hidalgo, México.

³Hospital de Respuesta Inmediata Actopan - Servicios de Salud de Hidalgo. Tulancingo, Hidalgo, México.

⁴Hospital de Respuesta Inmediata Tulancingo - Servicios de Salud de Hidalgo. Tulancingo, Hidalgo, México.

⁵Laboratorio Estatal de Salud Pública de Hidalgo



Índice

	página
Resumen	2
I. Introducción	3
II. Marco teórico	4
III. Metodología	8
IV. Resultados	14
V. Conclusiones	25
VI. Bibliografía	27

Anexos

Aviso de funcionamiento de VITA DEYUN® ante COFEPRIS.

RESUMEN

El cuadro clínico de COVID-19 evoluciona de: 1)Leve a moderada 2)Grave y 3)Muy grave; la evolución hacia casos graves puede llevar a desaturación, e infiltrados pulmonares y en casos muy graves a insuficiencia respiratoria, shock séptico, falla multiorgánica y la muerte, por lo que la capacidad de los hospitales puede verse rebasada.

Impera buscar alternativas terapéuticas que coadyuven en el manejo de la enfermedad, en este sentido, la silimarina, compuesto natural derivado del “cardo mariano” (*Silybum marianum*), es una mezcla de flavonoides que engloba a tres isómeros: silibinina, silicristina y silidianina; se ha documentado actividad anti-inflamatoria, inmunomoduladora y antiviral de extractos de esta planta.

Objetivo. Evaluar el efecto de la silimarina mediante parámetros de pronóstico en la modulación de la progresión de la enfermedad en pacientes diagnosticados con COVID-19

Material y Métodos. Se realizó un ensayo clínico controlado, en donde los sujetos de estudio, tanto en el grupo control como en el grupo de intervención, siguieron el tratamiento estándar ambulatorio y hospitalario, y para el grupo de intervención se agregó silimarina. Se midieron parámetros de pronóstico de la progresión de la enfermedad antes y después de la ministración de silimarina.

Resultados. Se observaron cambios estadísticamente significativos en la modulación de la progresión de la enfermedad. El 58 % de los pacientes ambulatorios del grupo intervenido (GI) Vs 0% del grupo control (GC) registró RT-PCR negativa; en pacientes hospitalizados fue del 35 % en GI Vs 4 % del GC. Se registraron cambios en los parámetros de laboratorio y días de estancia hospitalaria a favor del grupo intervenido.

Conclusión. La silimarina es un extracto natural con actividad anti-inflamatoria, inmunomoduladora y antiviral que soporta la propuesta para usarla como coadyuvante en la modulación de la progresión de COVID-19, sin suspender el tratamiento recomendado por los organismos oficiales de salud.

Palabras clave: COVID-19, Silimarina, “cardo mariano” (*Silybum marianum*)

I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad COVID-19 por SARS-CoV-2 está saturando los sistemas de salud y el costo económico y social de la enfermedad no tiene precedentes. Actualmente se encuentran en fase experimental algunas propuestas para el tratamiento efectivo de la enfermedad y el desarrollo de una vacuna se espera obtener en los próximos años. Por lo que es imperativo buscar alternativas terapéuticas orientadas en dos aspectos principales 1) impedir la infección viral o su diseminación en el organismo y 2) aminorar los efectos de la actividad de las proteínas virales que desencadenan la COVID-19.

En el presente estudio se plantea evaluar la actividad de un suplemento de origen natural, de uso frecuente en enfermedades hepáticas, como agente inhibidor de la infección al impedir la unión de la proteína S a su receptor ECA2 (enzima convertidora de angiotensina 2). Para lograr lo anterior se consideraron variables como edad, género, comorbilidades y parámetros de laboratorio como variables predictoras en la progresión de la enfermedad hacia la gravedad y muerte, además se evaluó la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR por sus siglas en inglés) en tiempo real, uno de los métodos de laboratorio más exactos para detectar, seguir y estudiar la carga viral por SARS-CoV-2, también se evaluó el parámetro de días de estancia hospitalaria para determinar el tiempo de recuperación de los pacientes en estudio.

Dada la necesidad de buscar alternativas que aminoren los efectos de las proteínas virales se plantea la interrogante ¿Cuál el efecto de la silimarina en la modulación de la progresión de la enfermedad en pacientes diagnosticados con COVID-19?. Para dar respuesta a esta interrogante se plantea la hipótesis nula: el uso de silimarina en pacientes con COVID-19 leve-moderada en manejo ambulatorio, así como de pacientes con COVID-19 grave o muy grave hospitalizados no tiene efecto en la modulación de la progresión de la enfermedad.

II. MARCO TEÓRICO

El cuadro clínico de la enfermedad COVID-19, de acuerdo con los CDC (Centros de control de enfermedad, por sus siglas en inglés) evoluciona de la siguiente manera:

1)Leve a moderada, 2)Grave y 3)Muy grave.¹

El tiempo medio, desde la enfermedad leve a moderada hasta la disnea (en la enfermedad grave), puede variar de 5 a 8 días, la mediana del tiempo hasta el síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) va de 8 a 12 días, y el tiempo promedio de ingreso en la unidad de cuidados intensivos (en la enfermedad muy grave) va de 10 a 12 días.^{2,3,4,5}

Por la incidencia de la enfermedad y las características de los individuos que la desarrollan, se postula que dentro de los factores que afectan la patogenia del virus se encuentran las enfermedades subyacentes de cada individuo, las cuales pueden empeorar el pronóstico de la enfermedad, entre esas están: hipertensión, diabetes, enfermedades cardiovasculares y enfermedades respiratorias, así como edad avanzada, género masculino, cáncer y demencia^{6,7,8}

El cuadro clínico de los pacientes con COVID-19 tiene un patrón de predominio respiratorio y depende del tropismo del virus hacia los órganos diana del cuerpo, debido a que el SARSCoV-2 utiliza al receptor de ECA-2 (enzima convertidora de la angiotensina 2) para su entrada en la célula del huésped. Este receptor se expresa altamente en múltiples tejidos corporales, entre ellos el tejido pulmonar, gastrointestinal, renal y cardíaco.^{9,10}

El SARS-CoV-2 está envuelto con genoma de ácido ribonucleico (ARN) de cadena positiva, no segmentado,^{11,12} por lo que, así como otros coronavirus, puede unirse a la proteína de la ECA2; proteína altamente expresada en las células pulmonares, siendo el principal sitio de entrada para el coronavirus.^{13,14} La unión a la ECA2 ocurre a través de la glicoproteína de la espiga en la envoltura del coronavirus (proteína S), una proteína de fusión viral de clase I que media la unión, fusión, y la entrada del virus en la célula huésped.¹⁵

II.1 Patogénesis de la infección por SARS-CoV-2 e Inflamación.

El virus se puede transmitir por vía aérea o al hacer contacto con superficies contaminadas, las vías de ingreso principales al organismo son la vía nasal, bucal u ocular. Una vez el virus ingresa al organismo, este va a infectar mucosas,¹⁶ especialmente la mucosa nasal y laríngea. Conforme la infección avanza, se traslada a los pulmones a través del tracto respiratorio,¹⁷ a partir de los pulmones, el virus puede ingresar a sangre periférica, causando viremia y atacando a órganos que expresen niveles elevados del receptor ECA2, como corazón, riñón y tracto gastrointestinal,¹⁸ explicando la sintomatología presente en el pródromo de la enfermedad.

Mientras el virus ingresa en las células del huésped, los péptidos antigénicos son presentados a los linfocitos T citotóxicos por medio de las moléculas que hacen parte del complejo mayor de histocompatibilidad.^{10,19} Se han evidenciado niveles significativamente altos de citoquinas y quimiocinas en la sangre de pacientes con COVID-19. Algunos de los casos graves han mostrado niveles altos de citocinas proinflamatorias y quimiocinas.²⁰ Las citocinas proinflamatorias favorecen la movilización de las defensas del organismo, pero al mismo tiempo inducen un estado de inflamación patológica. La inflamación generada a su vez induce la respuesta innata antiviral, limitando la replicación e infección viral, pero, por otro lado, permite la diseminación viral, al favorecer la liberación de las partículas virales y al reclutar células inmunes al lugar de la infección, proporcionando nuevos blancos celulares que incorporan partículas virales y se convierten en vehículos que llevan los virus a otras regiones del organismo. Por ello una explicación probable para el deterioro progresivo y grave de la infección por SARS-CoV-2, puede ser la producción descontrolada de citoquinas proinflamatorias y células inmunitarias que conlleva al síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), lesión en los órganos blanco del SARS-CoV-2 y posteriormente falla multiorgánica.^{21,22}

La lesión de los órganos blanco desencadena una serie de marcadores bioquímicos que al ser medidos pueden funcionar como predictores de avance de la enfermedad y mortalidad. Algunos de los parámetros de laboratorio que pueden ser predictores

de la progresión de la enfermedad son: aumento de valores del dímero D, ferritina,^{23,24,25} creatinina, LDH,²⁶ TGP y TGO.²⁷

El aumento de estos marcadores bioquímicos, entre otros, tiene que ver con la interacción del virus con las células de los diferentes órganos afectados, es por ello que el mejoramiento de los parámetros bioquímicos se relaciona con una disminución de la carga viral en el paciente infectado.²³

II.2 La proteína S y su receptor ECA2

La entrada de coronavirus en las células huésped está mediada por la glicoproteína S (*del inglés SPIKE*) del virus. Esta proteína forma homotrímeros que sobresalen de la superficie viral y adoptan la forma de pétalos.²⁸ La proteína S comprende dos subunidades funcionales, la subunidad S1 que es la parte más distal, es la responsable de la unión al receptor de la célula huésped,^{29,30} y la subunidad S2 que es la encargada de mediar la fusión de las membranas viral y celular.^{28,31} Al interactuar el dominio S1 con el receptor ECA2,^{28,29} la proteína S se divide por acción de las proteasas de la célula huésped en un sitio cercano al S2.³² La proteína receptora utilizada por el virus para infectar las células es la proteína ECA2, la expresión de este receptor se ha determinado en diversos tejidos como corazón, hígado, testículos, riñón, intestino, entre otros; normalmente, la proteína ECA2 se encarga de la regulación de la función cardíaca y renal, así como del control de la presión sanguínea.³³ La expresión de la proteína ECA2 es de gran relevancia por ser la proteína receptora que permite la entrada del virus SARS-CoV-2 a las células blanco.¹⁵

II.3 Silimarina como agente inmunomodulador y antiviral

La silimarina es un compuesto natural que deriva de la planta “cardo mariano” (*Silybum marianum*). El fruto del cardo mariano contiene silimarina, la cual es una mezcla de flavonoides que engloba a tres isómeros: silibinina, silicristina y silidianina. Estudios para evaluar el uso de la silimarina han observado que esta posee la capacidad de captar radicales libres, prevenir la liberación de TNF- α y restaurar los

niveles normales de superóxido dismutasa. Extractos de esta planta se han usado para el tratamiento de afecciones relacionadas con el hígado.^{34,35,36,37}

Así mismo se ha demostrado que la silimarina tiene una toxicidad baja hasta 40 microgramos por mililitro y que, a dosis respuesta, inhibe la secreción de interferon gamma (IFN- γ) y de IL-2 en linfocitos activados con anti-CD3 e igualmente inhibe la proliferación de linfocitos T CD4(+) activados e inhibe la activación de NF κ B, lo que demuestra su actividad anti-inflamatoria e inmunomoduladora.³⁸

En un modelo de daño pulmonar se demostró que la silimarina tiene un efecto protector en los pulmones al disminuir la infiltración de células inflamatorias, suprimir la actividad de la mieloperoxidasa, disminuir la producción de óxido nítrico y la actividad de la Óxido nítrico sintasa (iNOS), reducir los niveles proteicos de mediadores proinflamatorios, de superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa.³⁹ También se ha demostrado que el pretratamiento con silimarina tiene un efecto protector en daño pulmonar, mediante la reducción de la citotoxicidad y la promoción de la expresión de enzimas antioxidantes, remarcablemente, mediante la supresión de la activación del inflamosoma mediado por la NLRP3.⁴⁰ Por lo que estas observaciones soportan el uso de la silimarina como coadyuvante en la prevención de daño pulmonar.

Dentro de la actividad antiviral de la silimarina, se ha observado que es capaz de secuestrar el sistema de replicación del virus del chikungunya, reduciendo la replicación viral y disminuyendo la producción de proteínas virales involucradas en la replicación.⁴¹ De igual manera, existe evidencia de su efecto antiviral en contra del virus de la hepatitis C.⁴² En ensayos in vitro se ha observado que la silimarina inhibe la entrada del virus a sus células blanco y en las células infectadas inhibe la expresión del RNA viral y la producción de proteínas virales, disminuyendo la producción de virus infecciosos. Por otro lado, se ha visto que inhibe la actividad de la polimerasa dependiente de RNA (RdRp) del virus de la hepatitis C.⁴²

Por su parte, la silibinina, uno de los componentes de la silimarina, tiene propiedades inhibitorias sobre la infección de virus que entran a las células mediante el sistema de endocitosis mediada por clatrin, como por ejemplo reovirus, virus

de la estomatitis vesicular o virus de la influenza. La silibinina inhibe las etapas tempranas de la infección al afectar el tráfico endosomal de los viriones.⁴³

Las evidencias anteriores sugieren el efecto inmunomodulador y antiviral de la silimarina y soportan la propuesta de su evaluación como coadyuvante en la modulación de la progresión de COVID-19.

III. METODOLOGÍA

III.1 Diseño del estudio

Se realizó un ensayo clínico controlado, prospectivo, longitudinal.

III.2 Selección de la población de estudio

III.2.1 Criterios de inclusión:

- a) Pacientes diagnosticados de Covid-19 leve a moderada (manejo ambulatorio) mayores de 18 años de edad con RT-PCR positiva
- b) Pacientes con COVID-19 moderada, grave y muy grave mayores de 18 años de edad hospitalizados con RT-PCR positiva.
- c) Haber aceptado el extracto de sulimarina bajo consentimiento informado

III.2.2 Criterios de exclusión:

- a) No contar con RT-PCR positiva.
- b) No aceptar firmar el documento de consentimiento informado.

III.2.3 Criterios de eliminación:

- a) Pacientes que presenten datos de hipersensibilidad o reacción adversa severa causada por silimarina.
- b) Paciente que decide abandonar el manejo con silimarina.

III.3. Marco Muestral

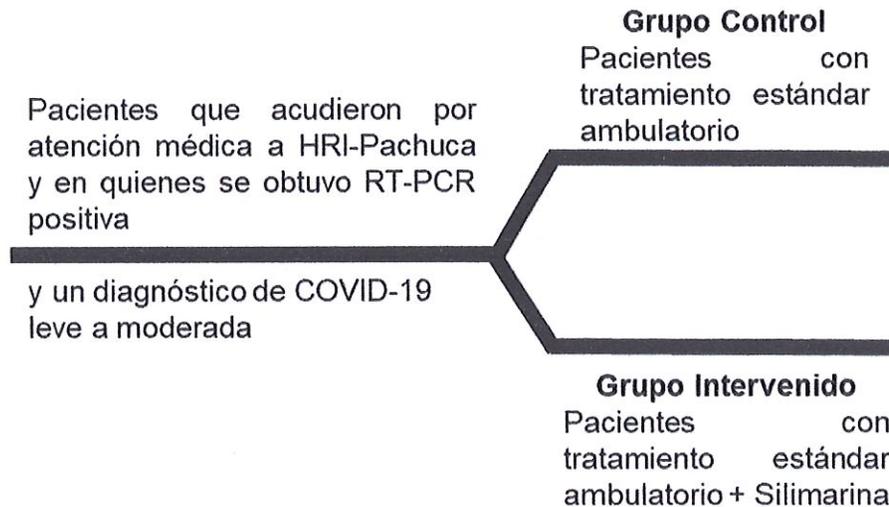
III.3.1 Tamaño de la muestra: Para evaluar el efecto de la silimarina en pacientes diagnosticados de COVID-19 tanto con manejo ambulatorio como hospitalario se cuenta con información (de acuerdo con la literatura citada en párrafos anteriores) que soporta la propuesta de su evaluación como coadyuvante en la modulación de

la progresión de la enfermedad, cuyo agente causal interactúa con el receptor ECA2.

Por lo anterior, y bajo los criterios citados en la Declaración CONSORT (Consolidated Standards of Reported Trials [Normas Consolidadas para las publicaciones de Ensayos Clínicos] RESEARCH METHODS & REPORTING),⁴⁴ los procedimientos de este estudio se monitorearon y condujeron en un pequeño número de participantes seleccionados a partir de un censo, en el que se consideraron a todos aquellos pacientes con COVID-19 que reunieron los criterios de inclusión hasta conformar 4 grupos en tres Hospitales de Respuesta Inmediata (HRI) para atender COVID-19, distribuidos de la siguiente manera:

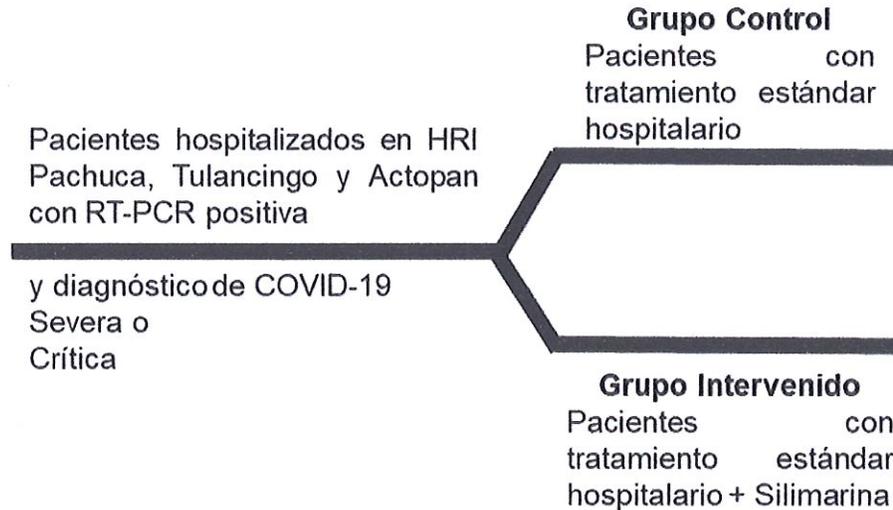
A) Protocolo para evaluación de silimarina en pacientes con manejo ambulatorio, 20 pacientes en el grupo control y 19 en el grupo de intervención (**Fig. 1**).

Fig. 1 Diagrama del diseño del estudio para el manejo ambulatorio con silimarina de pacientes con COVID-19



B) Protocolo para evaluación de silimarina en pacientes con manejo hospitalario, 25 pacientes en el grupo control y 25 pacientes en el grupo de intervención (Fig. 2).

Fig. 2 Diagrama del diseño del estudio para el manejo hospitalario con silimarina de pacientes con COVID-19



III.4 Ubicación espacio-temporal:

III.4.1 Lugar: Hospitales de Respuesta Inmediata (HRI) COVID-19 de Pachuca, Actopan y Tulancingo de los Servicios de Salud de Hidalgo (SSH)

III.4.2 Tiempo: El estudio tuvo una duración de 1 mes a partir de la selección de los pacientes

III.4.3 Persona: Pacientes diagnosticados con COVID-19 con RT-PCR positiva

III.5 Descripción del estudio

Se consideraron los pacientes diagnosticados de COVID-19 leve a moderada mediante RT-PCR positiva a quienes se les indicó manejo ambulatorio, referenciados a través del HRI COVID-19 de Pachuca de los SSH, y a pacientes con COVID-19 grave o muy grave con RT-PCR positiva hospitalizados, seleccionados en los HRI COVID-19 de Pachuca, Actopan y Tulancingo; se obtuvo el consentimiento informado para participar en el protocolo de estudio (en algunos casos fue autorizado por el familiar a cargo); el estudio se llevó a cabo de

conformidad con la Declaración de Helsinki y la Ley General de Salud Mexicana, en apego al documento emitido por la OMS “Uso de emergencia de intervenciones no probadas y fuera del ámbito de la investigación Orientación ética para la pandemia de COVID-19”,⁴⁵ lo que garantiza que se siguieron los procedimientos establecidos por leyes, normas y reglamentos, así como bajo el rigor metodológico para que los participantes en el presente estudio estuvieran debidamente protegidos. A los pacientes en manejo ambulatorio se les solicitó seguir su dieta habitual y se verificó que no estuvieran tomando ningún suplemento alimenticio que pudiera intervenir con el efecto de la silimarina. Se excluyeron los pacientes que no aceptaron firmar el documento de consentimiento informado y/o que decidieron no seguir tomando el extracto una vez iniciado el estudio. Se midieron parámetros de pronóstico de la progresión de la enfermedad antes y después de la ministración de silimarina.

III.5.1 Manejo de los pacientes.

III.5.1.1 Manejo ambulatorio de pacientes en el Grupo Control (GC). Tratamiento Estandarizado Ambulatorio (TEA) prescrito por los Servicios de Salud de Hidalgo (SSH) y entregado al paciente para autoadministración.

III.5.1.2 Manejo hospitalario de pacientes en el Grupo Control (GC). Tratamiento Estandarizado Hospitalario (TEH) prescrito por los Servicios de Salud de Hidalgo (SSH).

III.5.1.3 Manejo ambulatorio de pacientes en el Grupo Intervenido (GI). MEA + Suplemento Alimenticio. Se llevó el extracto hasta los hogares de los participantes cada 12 horas durante 5 días por personal debidamente capacitado y equipado para garantizar su propia seguridad y la seguridad del paciente.

III.5.1.3 Manejo hospitalario de pacientes en el Grupo Intervenido (GI). THE + Suplemento Alimenticio.

III.5.2 Suplemento Alimenticio. VITA DEYUN®, jarabe a base de agua ionizada acondicionado con *Silybum Marianum*. Conforme a registro de Funcionamiento ante la Comisión para la Protección de Riesgos Sanitarios del Estado de Jalisco (**Anexo 1**). Indicación de uso: 10 ml c/12 h durante 5 días.

III.5.3 Descripción de la determinación de la progresión de la enfermedad COVID-19.

De acuerdo a lo descrito en el marco teórico de este documento, se describen y analizan:

Para pacientes en manejo ambulatorio y en manejo hospitalario:

III.5.3.1 Factores que afectan la patogenia del SARS-CoV-2. Enfermedades subyacentes: hipertensión, diabetes, enfermedades cardiovasculares, enfermedades respiratorias, cáncer y demencia, así como edad avanzada y género.

III.5.3.2 RT-PCR. Se consideró la prueba diagnóstica, de acuerdo a criterios de inclusión del estudio y una segunda prueba al siguiente día de finalizar la toma del suplemento alimenticio. Este parámetro permite evaluar la progresión de la enfermedad por su lectura en función de la producción de nuevas copias de las partes del ADN vírico, los marcadores se acoplan a las cadenas de ADN y emiten una fluorescencia, que la computadora del equipo lector medirá y presentará en tiempo real en la pantalla. La computadora hace un seguimiento de la magnitud de la fluorescencia de la muestra tras cada ciclo. Cuando la inmunofluorescencia llega a un determinado nivel, se confirma la presencia del virus. El número de ciclos que se tarda en alcanzar ese nivel puede ser utilizado para determinar la gravedad de la infección: mientras menor sea el número de ciclos, más grave será la infección vírica y mientras más alto sea menos grave será y se acerca a la negatividad. Considerando una cifra ≥ 38 ciclos de transcripción como prueba de negatividad de carga viral.

Sólo para pacientes en manejo ambulatorio:

III.5.3.3 Monitoreo vía telefónica. Para corroborar presencia de signos y síntomas que ameritaran atención hospitalaria.

Sólo para pacientes en manejo hospitalario:

III.5.3.4 Pacientes intubados. Se registró el número de pacientes intubados y número de días que permanecieron así.

III.5.3.5 Parámetros de laboratorio. Se midieron dímero D (DD), ferritina, creatinina, LDH, TGP y TGO antes del inicio de la silimarina y cada 24 h durante los 5 días que dura la ministración del suplemento, como herramienta en la evaluación del pronóstico y de la progresión de la enfermedad.

III.5.3.6 Días de estancia hospitalaria. Para determinar el tiempo de recuperación de los pacientes en estudio.

III.5.3.6 Condición de salud de los pacientes al finalizar el estudio. Se registró el diagnóstico de los pacientes al inicio, en base a la clasificación clínica correspondiente, en COVID-19 leve a moderada, grave o muy grave, y se comparó contra pacientes dados de alta, pacientes que se mantuvieron hospitalizados o que fallecieron al finalizar el estudio.

IV. RESULTADOS

IV.1 Pacientes en manejo ambulatorio.

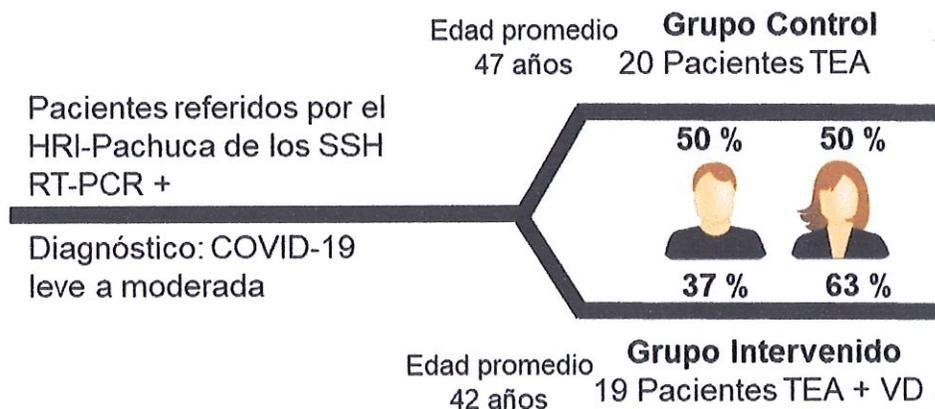
Se conformó una muestra a conveniencia mediante un censo de los pacientes referidos por el HRI-Pachuca de los Servicios de Salud de Hidalgo (SSH) durante 15 días para integrar una N de 39 pacientes, distribuidos al azar en 2 grupos: 20 pacientes en el grupo control (GC) con tratamiento estándar ambulatorio (TEA) prescrito por la institución, y 19 pacientes en el grupo de intervención (GI) con TEA más VITA DEYUN®, jarabe a base de agua ionizada acondicionado con *Silybum Marianum* (VD). Se consideraron los resultados de la RT-PCR de diagnóstico como prueba inicial, antes de la primera toma de VD y se realizó una segunda prueba al 6° día, un día después de la última toma de VD. Se mantuvo monitoreo vía telefónica durante 15 días, periodo de aislamiento indicado por los SSH después de una RT-PCR positiva. (Figura 1)

IV.1.1 Factores que afectan la patogenia del SARS-CoV-2

IV.1.1.1 Género. Se integró una proporción igual entre hombres y mujeres en el GC, mientras que en el GI, el mayor porcentaje fueron mujeres. (Figura 1)

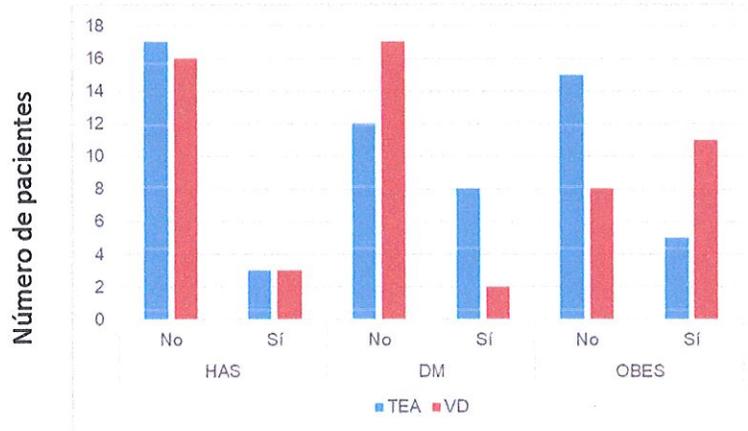
IV.1.1.2 Edad. La media de la edad para el GC fue de 47 años, mientras que para el GI de 42. (Figura 1)

Figura 1. Pacientes en manejo ambulatorio Protocolo VITA DEYUN. Grupo de asignación, edad y género.



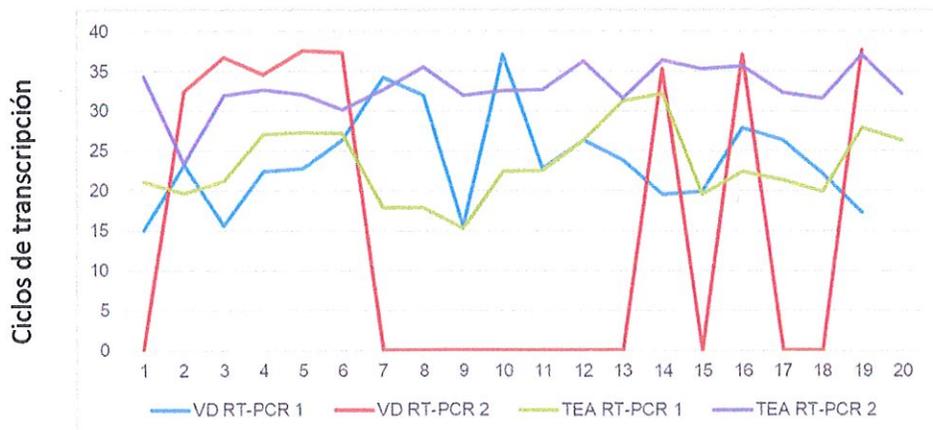
IV.1.1.3 Enfermedades subyacentes. Tanto en el GC (TEA) como en el GI (VD) hubo pacientes con enfermedades como la hipertensión arterial sistémica (HAS) con una frecuencia de distribución similar en cada grupo; diabetes mellitus (DM) con una frecuencia ligeramente mayor en el GC y obesidad (OBES) con una mayor frecuencia en el GI. Sin diferencias estadísticamente significativas entre grupos. **(Gráfico 1)**

Gráfico 1. Pacientes con enfermedades subyacentes por grupo de asignación



IV.1.2 RT-PCR. Considerando una cifra ≥ 38 ciclos de transcripción como prueba de negatividad de carga viral, se observaron diferencias estadísticamente significativas (ANOVA $F= 18.2$ $p < .05$). El 58 % de los pacientes (11 de 19) del grupo con tratamiento estándar ambulatorio (TEA) más suplemento (VD) se registró con una RT-PCR en la que no se pudo determinar la presencia del virus SARS-CoV-2, mientras que en el GC, donde los pacientes sólo recibieron el TEA no presentaron pruebas negativas con ciclos de transcripción indeterminados. **(Gráfico 2).**

Gráfico 2. Resultados de RT-PCR antes y después de la intervención



ANOVA ($F= 18.2$ $p < .05$)

En la tabla 1 se puede observar la diferencia de medias de los resultados de los pacientes que registraron RT-PCR positiva en ambos grupos después de la intervención; con una media de 36.07 ± 1.87 en GI se observan diferencias estadísticamente significativas (I.C. 95% 34.5 – 37.64); en el GC cuya media fue de 32.91 (I.C. 95 % 31.5 – 34.30), en el que además los valores mínimos mostraron carga viral importante por los ciclos de transcripción (cerca de 23.36).

Tabla 1. Diferencia de medias entre el GC (TEA) y el GI (VD) en los resultados de RT-PCR

	Media	Desv est.	I.C 95 %		Mínimo	Máximo
			Límite inferior	Límite superior		
TEA	32.91	2.97	31.52	34.30	23.36	37.04
VD	36.07	1.87	34.51	37.64	32.38	37.66

IV.1.3 Monitoreo vía telefónica. En ambos grupos los pacientes refirieron signos tolerables referentes a fiebre, irritación de garganta, artralgias y cefalea, en baja proporción en cuanto al número de pacientes, sin diferencias estadísticamente significativas. Ningún caso ameritó atención hospitalaria durante 15 días de seguimiento.

IV.2 Pacientes en manejo hospitalario.

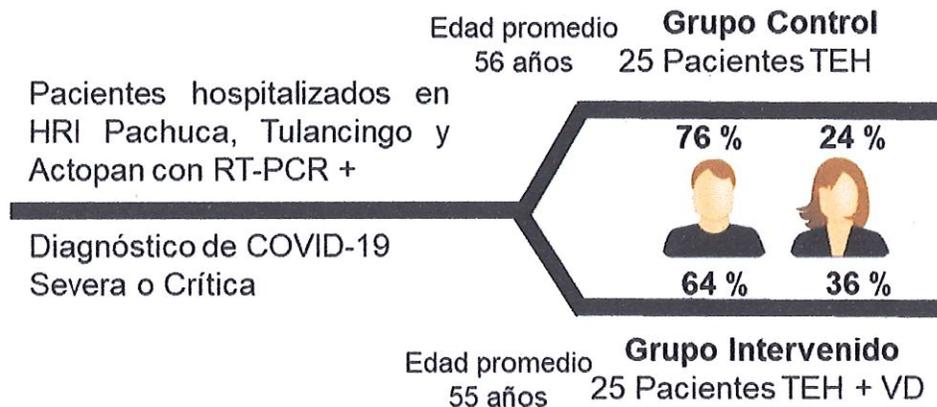
Se conformó una muestra a conveniencia mediante un censo de los pacientes internados en los HRI de Pachuca, Actopan y Tulancingo de los Servicios de Salud de Hidalgo (SSH) durante 15 días para integrar una N de 50 pacientes, distribuidos al azar en 2 grupos: 25 pacientes en el grupo control (GC) con tratamiento estándar hospitalario (TEH) prescrito por la institución, y 25 pacientes en el grupo de intervención (GI) con TEA más VITA DEYUN®, jarabe a base de agua ionizada acondicionado con *Silybum Marianum* (VD). Se consideraron los resultados de la RT-PCR de diagnóstico como prueba inicial, antes de la primera toma de VD y se realizó una segunda prueba al 6º día, un día después de la última toma de VD. Se mantuvo monitoreo durante su estancia hospitalaria. (Figura 2)

IV.2.1 Factores que afectan la patogenia del SARS-CoV-2

IV.2.1.1 Género. Tanto en el GC como en el GI el mayor porcentaje fue de hombres. (Figura 2)

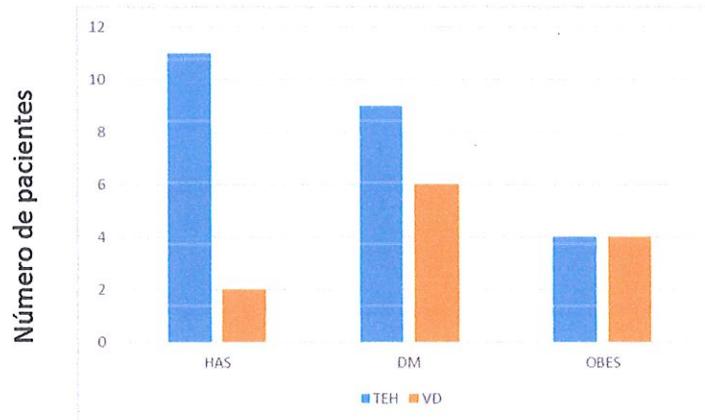
IV.2.1.2 Edad. La media de la edad para el GC fue de 56 años y, para el GI, muy similar, de 55. (Figura 2)

Figura 2. Pacientes en manejo ambulatorio Protocolo VITA DEYUN. Grupo de asignación, edad y género.



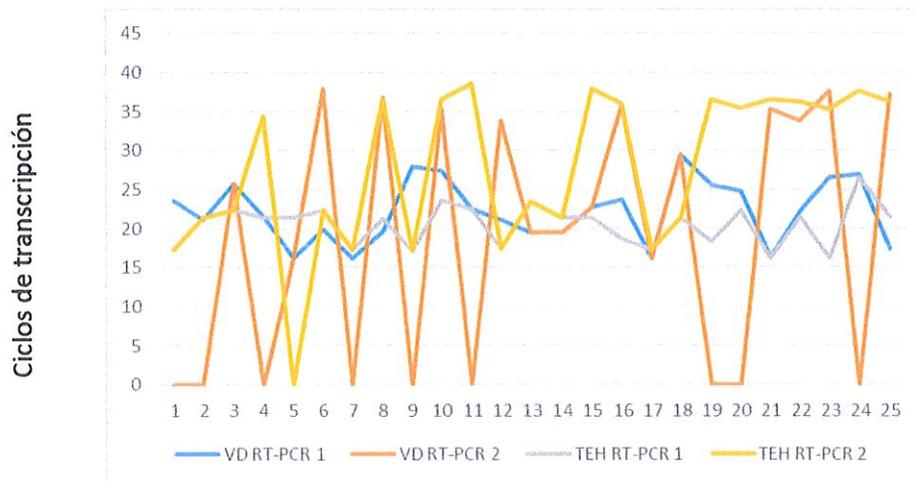
IV.2.1.3 Enfermedades subyacentes. El 36 % de los pacientes en el GC (TEH) tenía diabetes mellitus (DM), 56 % hipertensión arterial sistémica (HAS) y 16 % obesidad (OBES). Mientras que en el grupo de intervención (VD) el 24 % de los pacientes tuvo DM, 8 % HAS y el 16 % obesidad (OBES). **(Gráfico 3)**

Gráfico 3. Pacientes con enfermedades subyacentes por grupo de asignación



IV.2.2 RT-PCR. Considerando una cifra ≥ 38 ciclos de transcripción como prueba de negatividad de carga viral, se observaron diferencias estadísticamente significativas (ANOVA $F= 5.4$ $p < .05$). En el 35 % de los pacientes (9 de 25) del grupo con tratamiento estándar hospitalario (TEH) más suplemento (VD) se registraron pruebas con RT-PCR en las que no se pudo determinar la presencia del virus SARS-CoV-2, mientras que en el GC, donde los pacientes sólo recibieron el TEH se presentó 1 (4%) prueba negativa con ciclos de transcripción indeterminados. **(Gráfico 4).**

Gráfico 4. Resultados de RT-PCR antes y después de la intervención



ANOVA ($F= 5.4$ $p < .05$)

En la tabla 2 se observan medias muy parecidas en los resultados de los pacientes que registraron RT-PCR positiva en ambos grupos después de la intervención; con una media de 29.56 ± 8.25 en el GI se observan diferencias estadísticamente significativas (I.C. 95% 25.17 – 33.96); mientras que en el GC la media fue de 28.71 (I.C. 95 % 24.98 – 32.43), en el que además los valores mínimos mostraron carga viral importante por los ciclos de transcripción cerca de 23.36. **(Tabla 2)**

Tabla 2. Diferencia de medias entre el GC (TEA) y el GI (VD) en los resultados de RT-PCR

	Media	Desv est.	I.C 95 %		Mínimo	Máximo
			Límite inferior	Límite superior		
TEH	28.71	8.82	24.98	32.43	17.0	39.0
VD	29.56	8.25	25.17	33.96	16.0	38.0

IV.2.3 Pacientes intubados. En el GC (TEH) había 11 pacientes intubados (44 %), mientras que en el GI (VD) había 12 (48 %). Al inicio del estudio, en promedio los pacientes del GC llevaban 5 ± 6 días intubados, mientras que los pacientes del GI llevaban 8 ± 11 días en promedio. **(Tabla 3)**

Tabla 3. Diferencia de medias entre los pacientes del GC (TEA) y el GI (VD) en el número de días intubados

	Media	Desv est.	I.C 95 %		Mínimo	Máximo
			Límite inferior	Límite superior		
TEH	4.68	5.942	2.23	7.13	0	17
VD	7.76	10.775	3.31	12.21	0	31

IV.2.4 Parámetros de laboratorio. Se midieron dímero D (DD), ferritina, creatinina, LDH, TGP y TGO antes y después de la intervención.

Para evaluar el impacto de la intervención en la modulación de la progresión de la enfermedad COVID-19, mediante marcadores bioquímicos, se consideró el análisis de la diferencia de medias de los parámetros para cada marcador bioquímico entre el día 1, antes de ministrar el suplemento alimenticio (VD) y el día 5 después del inicio con el suplemento.

Se utilizó el procedimiento estadístico Prueba T para muestras relacionadas para comparar las medias de dos variables de un solo grupo, es decir se compararon los resultados de laboratorio del día 1 y los del día 5 en cada marcador bioquímico.

El procedimiento calcula las diferencias entre los valores de las dos variables de cada caso y contrasta si la media difiere de 0.

IV.2.4.1 Interpretación de los parámetros observados en los resultados de laboratorio. Los estadísticos que se reportan para cada variable son: media, desviación estándar y error estándar de la media. Para cada par de variables, es decir los resultados del día 0 y el día 5 de cada marcador bioquímico, se reporta: correlación, prueba t para la diferencia entre las medias (especificado al 95%).(Tabla 4)

Tabla 4. Diferencia de medias en los parámetros de las pruebas de laboratorio antes y después de la intervención

Parámetro bioquímico	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	Par	Correlación	t	Sig p	Gráfico de referencia	
Par 1	D1	3740.50	7011.529	991.580	D1 y D5	0.08	1.07	0.56	5
	D5	2394.74	6047.230	855.207					
Par 2	Urea1	18.13	14.461	2.045	Urea1 y Urea5	0.65	1.32	0.00	6
	Urea5	14.38	26.284	3.717					
Par 3	Creatinina1	0.87	1.034	0.146	Creatinina1 y Creatinina5	0.21	0.84	0.15	7
	Creatinina5	0.70	1.193	0.169					
Par 4	Tgp1	37.24	38.798	5.487	Tgp1 y Tgp5	0.55	2.45	0.00	8
	Tgp5	25.76	28.468	4.026					
Par 5	Tgo1	39.26	29.391	4.157	Tgo1 y Tgo5	0.49	2.39	0.00	9
	Tgo5	28.46	33.513	4.740					
Par 6	Dhl1	464.92	308.782	43.668	Dhl1 y Dhl5	0.61	1.35	0.00	10
	Dhl5	397.02	449.974	63.636					
Par 7	Ferritina1	1011.10	755.175	106.798	Ferritina1 y Ferritina5	0.33	3.04	0.02	11
	Ferritina5	666.56	611.831	86.526					

En la Tabla 4 se puede apreciar que las diferencias observadas en los parámetros del Dímero D (Gráfico 5) no son estadísticamente significativas, al igual que para la Creatinina (Gráfico 7); sin embargo, los parámetros observados en Urea (Gráfico 6), TGP (Gráfico 8), TGO (Gráfico 9), Dhl (Gráfico 10) y Ferritina (Gráfico 11) muestran diferencias en los promedios del día 1 y el día 5 y éstas son estadísticamente significativas con mejoría en el grupo intervenido. Esto se puede apreciar mejor en los gráficos que se citan.



Gráfico 5. Media de titulaciones de dímero D por día

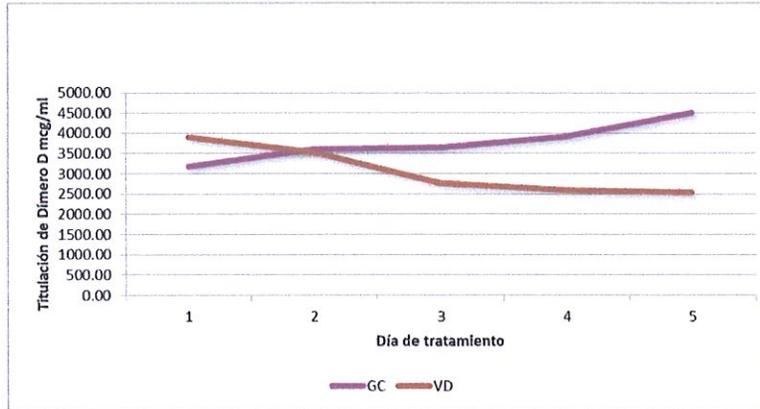


Gráfico 6. Media de titulaciones de urea por día

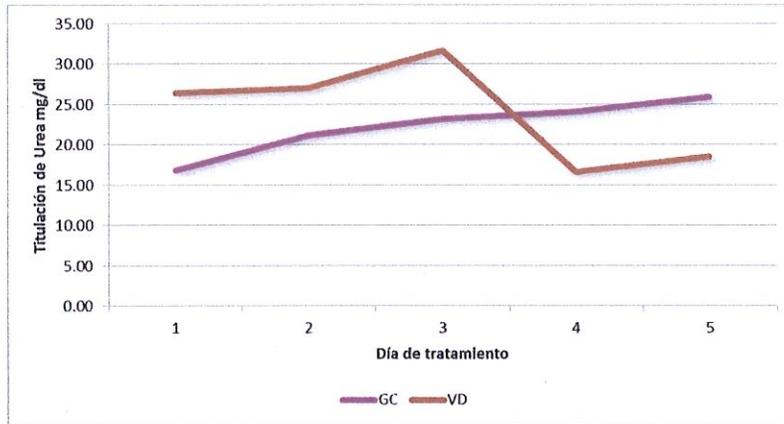


Gráfico 7. Media de titulaciones de creatinina por día

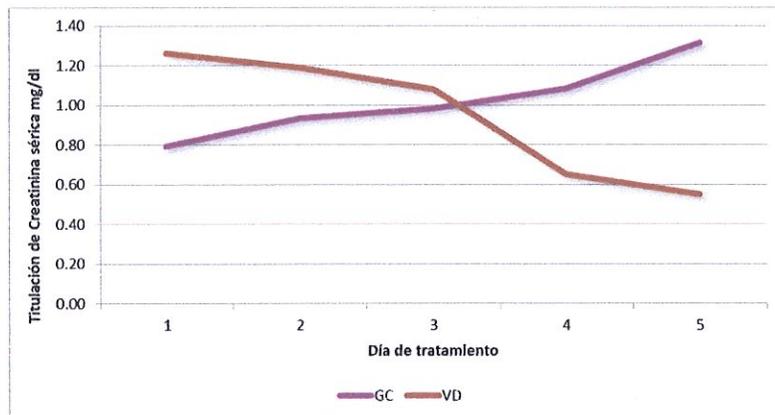




Gráfico 8. Media de titulaciones de TGP por día

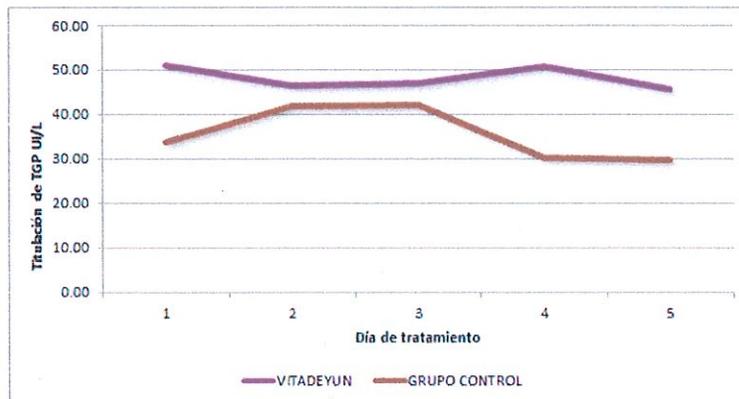


Gráfico 9. Media de titulaciones de TGO por día

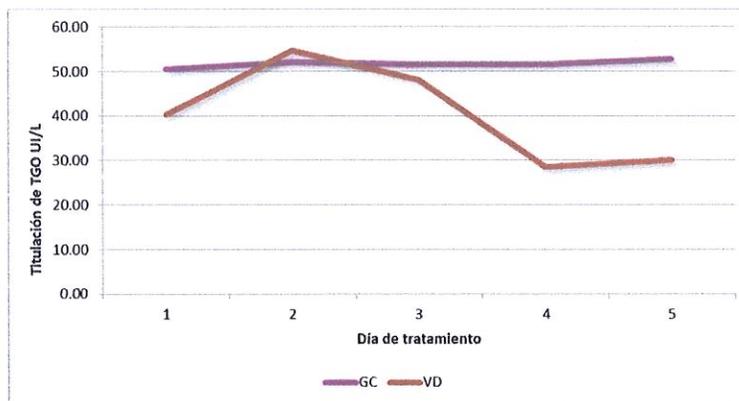


Gráfico 10. Media de titulaciones de DHL por día

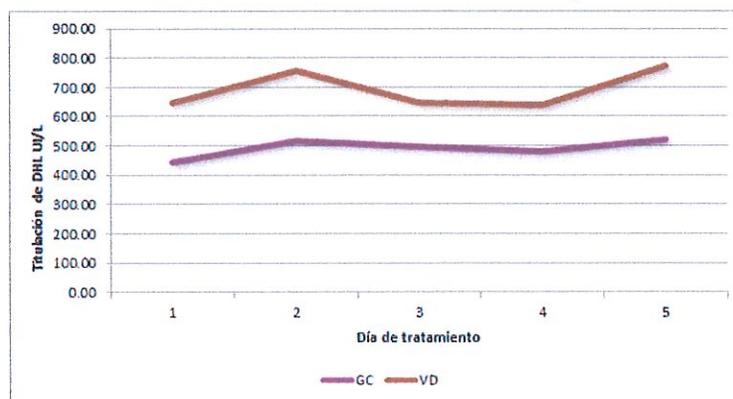
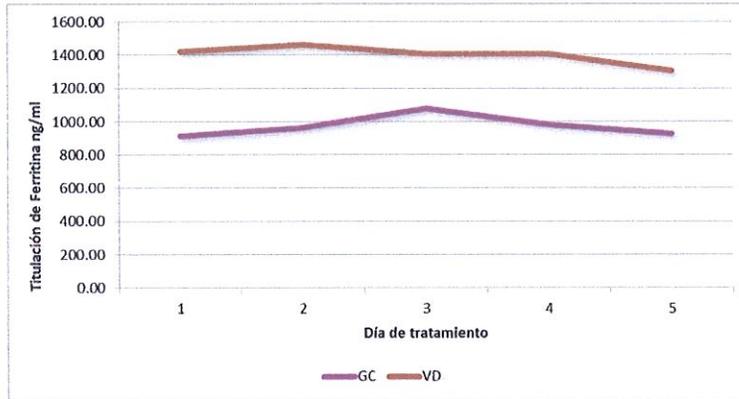
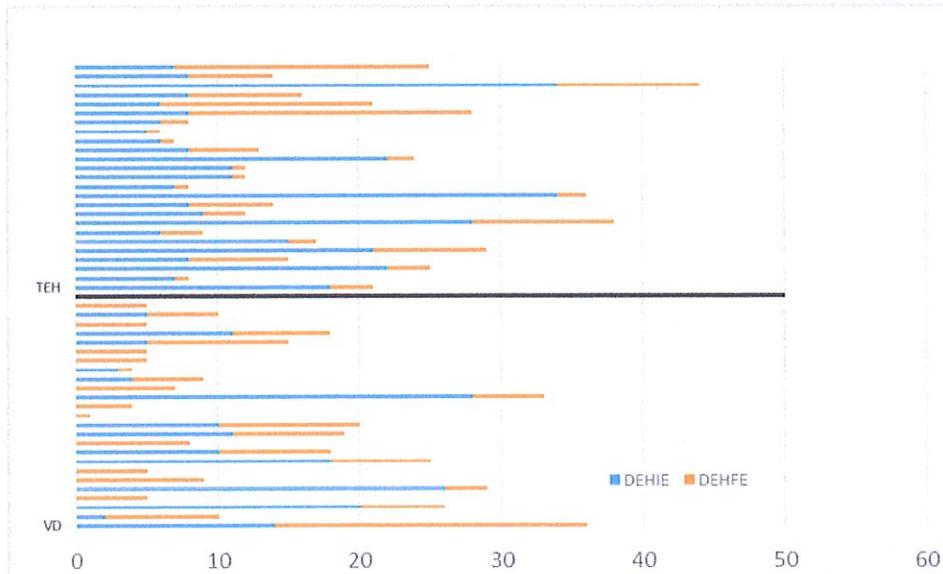


Gráfico 11. Media de titulaciones de Ferritina por día



IV.2.5 Días de estancia hospitalaria. Al inicio del estudio los pacientes del GC (TEH) llevaban 13 ± 9 días hospitalizados (mín 5, máx 34 I.C. 95 % 9-16), mientras que los pacientes del GI (VD) llevaban 7 ± 9 días hospitalizados (mín 0 máx 28 I.C. 95 % 3-10). Los días de estancia hospitalaria al final del estudio para el GC fueron de 18 ± 10 (mín 6 más 44 I.C. 95 % 14-23), mientras que para el GI fueron de 13 ± 10 (mín 1 máx 36 I.C. 95 % 9-17). **(Gráfico 12)**

Gráfico 12. Días de estancia hospitalaria antes y después de la intervención

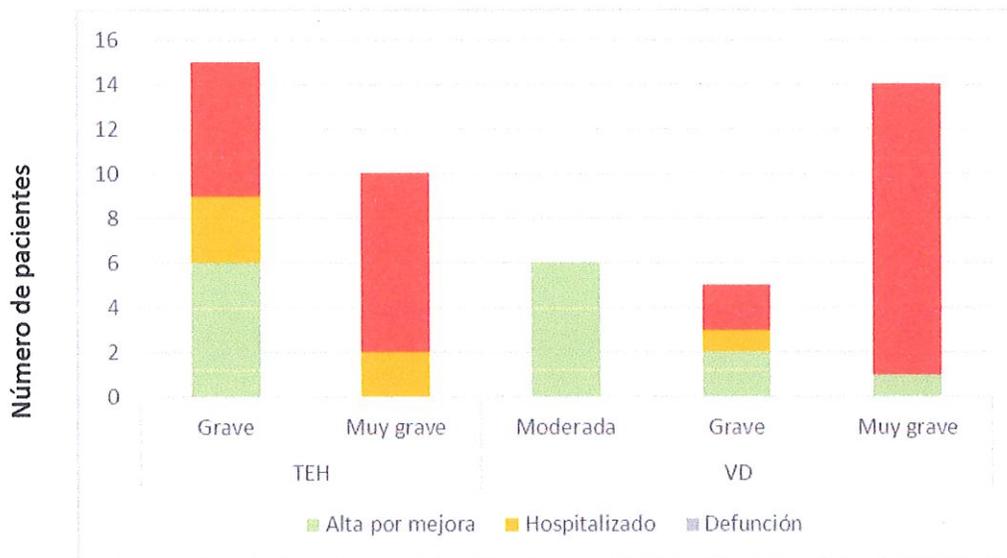


DEHIE Días de estancia hospitalaria al inicio del estudio DEHFE Días de estancia hospitalaria al final del estudio

IV.2.6 Condición de salud de los pacientes al terminar el estudio.

Al finalizar el estudio, después de más de 30 días de seguimiento. Los 15 pacientes del grupo control (TEH) registrados con COVID-19 severa al final del estudio se registraron: 40 % alta por mejora, 20 % hospitalizados y 40 % fallecidos; los 10 registrados con COVID-19 crítica al final del estudio se registraron: 20 % hospitalizados y 80 % fallecidos. En el grupo intervenido (VD) los 6 pacientes registrados con COVID-19 moderada al final se registraron: 100 % alta por mejora; los 5 registrados con COVID-19 severa, al final se registraron: 40 % alta por mejora, 20 % hospitalizados y 40 % fallecidos; los 14 registrados con COVID-19 crítica, al final se registraron: 7 % alta por mejora y 93 % fallecidos.

Gráfico 13. Condición de salud de los pacientes al terminar el estudio



V. CONCLUSIONES

- 1) Los factores que afectan la patogenia del SARS-CoV-2 en la enfermedad COVID-19 se presentaron de acuerdo a lo esperado según los reportes de la literatura.
- 2) El género más afectado es el masculino, lo cual se observó en el mayor porcentaje de hombres hospitalizados y en estado grave o muy grave.
- 3) Los pacientes con afecciones más severas son los de más de 60 años, el promedio de edad de los pacientes hospitalizados está arriba de los 55 años, mientras que los pacientes menos afectados, en manejo ambulatorio se encuentran por debajo de los 50 años.
- 4) Las enfermedades subyacentes son un factor muy importante para la complicación de COVID-19, sobre todo en pacientes hospitalizados y por arriba de 65 años de edad, siendo la Diabetes Mellitus la de mayor presencia en la población estudiada.
- 5) Los pacientes con COVID-19 muy grave y/o que se encuentran intubados tienen menor oportunidad para recuperarse, por lo que los pacientes en estas condiciones, tanto en el grupo control como en el grupo intervenido, en su mayoría evolucionaron hacia la muerte. Es importante señalar que ocurre lo mismo que se reporta en la literatura científica, en la que se describe que ningún tratamiento, hasta el momento, ha logrado disminuir la mortalidad en pacientes intubados.
- 6) La modulación de la carga viral de los pacientes con el uso de silimarina evolucionó más rápido (5 días después de la primera toma) y en un porcentaje mayor que en los pacientes que no usaron el suplemento.
- 7) Todos los parámetros de laboratorio evaluados, salvo el dímero D y la creatinina, fueron modulados hacia la mejora en ambos grupos (GC y GI), mostrándose una

diferencia de medias, estadísticamente significativas, a favor de un mejor resultado en el GI.

8)El promedio de días de estancia hospitalaria resultó menor en los pacientes que usaron la silimarina.

9)Los pacientes en fase muy grave de COVID-19 fallecieron tanto en el grupo control como en el grupo intervenido en un porcentaje entre el 80 (GC) y 90 (GI) %. Entre los pacientes en fase de COVID-19 grave los resultados fueron los mismos tanto para el GC como para el GI con una mortalidad del 40 %, hospitalizados 20 % y alta por mejora el 40 %. Por otro lado, el 100 % de los pacientes en fase COVID-19 moderada en el GI se registraron como alta por mejora al final del estudio.

10)Por todo lo anterior, se considera que la silimarina puede utilizarse como coadyuvante en la modulación de la progresión de la enfermedad en pacientes diagnosticados con COVID-19 leve a moderada, tanto en el manejo ambulatorio como en el manejo hospitalario; y como un coadyuvante profiláctico antes de llegar a la fase grave de la enfermedad por su capacidad para modular la carga viral y con ello su efecto en la salud de los pacientes.

11)No se recomienda el uso de la silimarina en ausencia de los demás medicamentos manejados como tratamiento estandarizado tanto para pacientes ambulatorios como hospitalizados.

12)Este estudio es un ensayo clínico controlado con una muestra a conveniencia pequeña, por lo que los resultados sólo son esxtrapolables a la población de donde se obtuvo la muestra de estudio.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020;323(13):1239–1242.
- ² Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395:497-506.
- ³ Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 2020.
- ⁴ Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020.
- ⁵ Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med* 2020.
- ⁶ Du RH, Liang LR, Yang CQ, Wang W, Cao TZ, et al. Predictors of mortality for patients with covid-19 pneumonia caused by SARS-CoV-2: A prospective cohort study. *Eur Respir J* 2020;55: 2000524.
- ⁷ Lippi G, Wong J, Henry B. Hypertension and its severity or mortality in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A pooled analysis. *Pol Arch Intern Med* 2020;130:304-309.
- ⁸ Yang J, Zheng Y, Gou X, Pu K, Chen Z, Guo Q, et al. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2020;94:91-5.
- ⁹ Devaux C, Rolain J, Colson P, Raoult D. New insights on the antiviral effects of chloroquine against coronavirus: what to expect for COVID-19? *International Journal of Antimicrobial Agents* 2020;55(5)105938
- ¹⁰ Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S (2020) Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 2020: 1-7.
- ¹¹ Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395:497–506.
- ¹² Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol* 2016;24:490–502.
- ¹³ Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020;579:270–3.
- ¹⁴ Ge XY, Li JL, Yang XL, et al. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. *Nature* 2013;503:535–8.
- ¹⁵ Descriptores en Ciencias de la Salud. Glicoproteínas de la Espiga del Coronavirus. Instantánea de la página según apareció el 18 Mayo 2020 00:04:12 GMT. Organización Panamericana de Salud, Organización Mundial de la Salud, BIREME Centro Latinoamericano y del Caribe de Información en Ciencias de la Salud. Acceso: 21 Mayo 2020. Disponible en URL:

http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:OkvJ_y6WNUJ:decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/%3FIsisScript%3D../cgi-bin/decserver/decserver.xis%26task%3Dexact_term%26previous_page%3Dhomepage%26interface_language%3De%26search_language%3De%26search_exp%3DGlicoprote%25EDnas%2520de%2520la%2520Espiga%2520del%2520Coronavirus+%&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=mx

- ¹⁶ Zhang X, Chen X, Chen L, Deng C, Zou X, Liu W, et al. The evidence of SARS-CoV-2 infection on ocular surface. *Ocul Surf*. 2020.
- ¹⁷ Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708-20.
- ¹⁸ Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat Microbiol*. 2020;5(4):562-9.
- ¹⁹ Vega G. Complejo mayor de histocompatibilidad. *Rev Fac Med UNAM* 2009 52: 86-89.
- ²⁰ Rothan HA, Byrareddy SN (2020) The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *Journal of Autoimmunity* 2020: 102433.
- ²¹ Li H, Liu S, Yu X, Tang S, Tang C. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspective. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2020
- ²² Zhou D, Dai SM, Tong Q. COVID-19: A recommendation to examine the effect of hydroxychloroquine in preventing infection and progression. *J Antimicrob Chemother* 2020.
- ²³ Zhang G, Zhang J, Wang B, Zhu X, Wang Q, et al. Analysis of clinical characteristics and laboratory findings of 95 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A retrospective analysis. *Respir Res* 2020;21: 74.
- ²⁴ Lippi G, Wong J, Henry B. Hypertension and its severity or mortality in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A pooled analysis. *Pol Arch Intern Med* 2020;130: 304-309.
- ²⁵ Tang N, Li D, Wang X, Sun Z (2020) Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 18: 844-847.
- ²⁶ Singhal T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Indian J Pediatric* 2020;87: 281-286.
- ²⁷ León J, Gómez A, Tapias M. L. Implicaciones hepáticas en la pandemia por COVID-19. *Revista Colombiana De Gastroenterología* 2020;35(Supl. 1):30-36.
- ²⁸ Tortorici MA, Velesler D. Structural insights into coronavirus entry. *Adv Virus Res*. 2019;105:93-116.
- ²⁹ Li F, Li W, Farzan M, Harrison SC. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science*. 2005;309(5742):1864-8.
- ³⁰ Song W, Gui M, Wang X, Xiang Y. Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2. *PLoS Pathog*. 2018;14(8):e1007236.
- ³¹ Gui M, Song W, Zhou H, Xu J, Chen S, Xiang Y, et al. Cryo-electron microscopy structures of the SARS-CoV spike glycoprotein reveal a prerequisite conformational state for receptor binding. *Cell Res*. 2017;27(1):119-29.
- ³² Millet JK, Whittaker GR. Host cell proteases: Critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Res*. 2015;202:120-34.
- ³³ Anguiano L, Riera M, Pascual J, Soler MJ. Circulating ACE2 in Cardiovascular and Kidney Diseases. *Curr Med Chem*. 2017;24(30):3231-41.
- ³⁴ Saller R, Meier R, Brignoli R. The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs*. 2001;61(14):2035-63.

- ³⁵ Bosisio E, Benelli C, Pirola O. Effect of the flavanolignans of *Silybum marianum* L. on lipid peroxidation in rat liver microsomes and freshly isolated hepatocytes. *Pharmacol Res.* 1992;25(2):147-54.
- ³⁶ Carini R, Comoglio A, Albano E, Poli G. Lipid peroxidation and irreversible damage in the rat hepatocyte model. Protection by the silybin-phospholipid complex IdB 1016. *Biochem Pharmacol.* 1992;43(10):2111-5.
- ³⁷ Mira L, Silva M, Manso CF. Scavenging of reactive oxygen species by silibinin dihemisuccinate. *Biochem Pharmacol.* 1994;48(4):753-9.
- ³⁸ 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(2):671-81, 81 e1-2.
- ³⁹ Zhao F, Shi D, Li T, Li L, Zhao M. Silymarin attenuates paraquat-induced lung injury via Nrf2-mediated pathway in vivo and in vitro. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2015;42(9):988-98.
- ⁴⁰ Liu Z, Sun M, Wang Y, Zhang L, Zhao H, Zhao M. Silymarin attenuated paraquat-induced cytotoxicity in macrophage by regulating Trx/TXNIP complex, inhibiting NLRP3 inflammasome activation and apoptosis. *Toxicol In Vitro.* 2018;46:265-72.
- ⁴¹ Lani R, Hassandarvish P, Chiam CW, Moghaddam E, Chu JJ, Rausalu K, et al. Antiviral activity of silymarin against chikungunya virus. *Sci Rep.* 2015;5:11421.
- ⁴² Wagoner J, Negash A, Kane OJ, Martinez LE, Nahmias Y, Bourne N, et al. Multiple effects of silymarin on the hepatitis C virus lifecycle. *Hepatology.* 2010;51(6):1912-21.
- ⁴³ Blaising J, Levy PL, Gondeau C, Phelip C, Varbanov M, Teissier E, et al. Silibinin inhibits hepatitis C virus entry into hepatocytes by hindering clathrin-dependent trafficking. *Cell Microbiol.* 2013;15(11):1866-82.
- ⁴⁴ Moher D, Hopewell S, Schulz K, Montori V, Gotzsche P, Devereaux PJ, et al. RESEARCH METHODS & REPORTING. CONSORT 2010 Explanation and Elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ* 2010;340:c869
- ⁴⁵ PHAO. Uso de emergencia de intervenciones no probadas y fuera del ámbito de la investigación Orientación ética para la pandemia de COVID-19. Junio 2020. Acceso: 20 de mayo de 2020 Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/uso-emergencia-intervenciones-no-probadas-fuera-ambito-investigacion-orientacion-etica>

Aviso de Funcionamiento, de Responsable Sanitario y de Modificación o Baja


 Formato
 FIS-02
 Número de RUPA
Comisión para la Protección contra Riesgos Sanitarios del Estado de Jalisco

Uso exclusivo de la COFEPRIS
 Número de ingreso
 201410519X0365

Antes de llenar este formato lea cuidadosamente el instructivo, la guía y el listado de documentos anexos. Llenar con letra de molde legible o a máquina o a computadora. El formato no será válido si presenta tachaduras o enmendaduras en la información.

1. Homoclave, nombre y modalidad del trámite

Homoclave: COFEPRIS-05-019 Nombre: Aviso de Modificación al Aviso de Funcionamiento o baja de establecimiento de productos y servicios
 Modalidad:

2. Datos del propietario

Persona física

RFC:
 CURP (opcional):
 Nombre(s):
 Primer apellido:
 Segundo apellido:
 Lada:
 Teléfono:
 Extensión:
 Correo electrónico:


 Hora 11:20

Persona moral

RFC: EDA190821DH3
 Denominación o razón social:
 ENVASADORA D'AQUA, S.A. DE C.V.
 Representante legal o apoderado que solicita el trámite
 RFC: PESB990629CB4
 CURP (opcional): PESB990629HJCRLR06
 Nombre(s): Bernardo
 Primer apellido: Pérez
 Segundo apellido: Soltero
 Lada:
 Teléfono: 33 38 80 7000
 Extensión: 2066
 Correo electrónico: jmurillo@summaco.com

Domicilio fiscal del propietario

Código postal: 45138
 Tipo y nombre de vialidad: CALLE EMILIANO ZAPATA
 (Por ejemplo: Avenida, boulevard, calle, carretera, camino, privada, terracería entre otros)
 Número exterior: 559 Número interior: C
 Tipo y nombre de la colonia o asentamiento humano:
 COLONIA JARDINES DE NUEVO MÉXICO
 (Tipo de asentamiento humano por ejemplo: Condominio, hacienda, rancho, fraccionamiento entre otros.)

Localidad: ZAPOPAN
 Municipio o alcaldía: ZAPOPAN
 Entidad Federativa: JALISCO
 Entre vialidad (tipo y nombre): CALLE JUAN MANUEL RUVALCABA
 Y vialidad (tipo y nombre): CALLE LIC. MIGUEL GÓMEZ LOZA
 Vialidad posterior (tipo y nombre): CALLE OCTAVA SUR
 Lada:
 Teléfono: 33 38 80 7000
 Extensión: 2066

"De conformidad con los artículos 4 y 69-M, fracción V de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo, los formatos para solicitar trámites y servicios deberán publicarse en el Diario Oficial de la Federación (DOF)"



Contacto:
 Calle Oklahoma No. 14, colonia Nápoles;
 Delegación Benito Juárez, Ciudad de México,
 C.P. 03810.
 Teléfono 01-800-033-5050
contacto@cofepris.gob.mx