

## Prevención con silimarina de las alteraciones hepáticas inducidas con etionina en ratas

F. García-Pravia, M. Sopena-Dasí y J. R. Vázquez de Prada

Departamento de Fisiología y Bioquímica  
Facultad de Medicina  
Universidad de Valladolid  
Valladolid (España)

(Recibido el 16 de junio de 1973)

F. GARCIA-PRAVIA, M. SOPENA-DASI and J. R. VAZQUEZ DE PRADA. *Prevention of the Some Ethionine-induced Liver Alterations in Rats by Silimarine*. Rev. esp. Fisiol., 29, 227-232. 1973.

The respiratory activity of liver slices from female rats treated with D-L Ethionine is inhibited. Also, there are histological (fatty metamorphosis) and biochemical changes (total lipids accumulation, loss of glycogen).

Silimarine seems to repair, in some way, the liver damages produced by ethionine. because liver slices from rats treated with ethionine and silimarine almost do not have biochemical changes and the metamorphosis does not appear.

La etionina, un análogo de la metionina, es capaz de producir hígado graso (3), de inhibir las actividades fosforilásica (6) y triptofanopirrolásica (4), de bloquear la síntesis proteica (10) y de causar un descenso notable de los niveles de glucógeno (5) y ATP (7) hepáticos. Existe, además, una diferencia sexual respecto a estos efectos. Las ratas hembras muestran profundas modificaciones, mientras que son mínimas o nulas en los animales machos.

En el presente trabajo, se estudia la actividad respiratoria de cortes de hígado de ratas tratadas con etionina, describiendo, al mismo tiempo, algunas de las alteraciones estructurales y bioquímicas hepáticas que se presentan y el papel preventivo que, sobre estos cambios, ejerce la silimarina (polihidroxi-2-fenil-cromanonolignano).

### Material y métodos

Se ha empleado un total de 24 ratas hembras Wistar, con un peso medio de 200 g. A un grupo de 8 animales se le administró, por vía intraperitoneal, 3 ml de DL-etionina (Sigma) en solución salina (20 mg/ml/200 g de peso) a las 9 de la mañana suministrando la misma dosis 2 ½, 5 y 7 horas después.

Otro grupo de 8 ratas recibió simultáneamente con las inyecciones de etionina otras cuatro inyecciones, por vía hipodérmica, de 1 ml de propilenglicol con silimarina (Boehringer) (100 mg/kg/ de peso). Un tercer grupo de 4 ratas fue tratado sólo con solución salina fisiológica (controles) y un cuarto grupo de 4 animales, con solución salina fisiológica y propilenglicol.

Los animales fueron decapitados a las

nueve horas del comienzo del experimento y desde el principio se mantuvieron en ayunas, pero con agua *ad libitum*.

Los consumos de oxígeno se determinaron por la técnica manométrica de Warburg (9), a temperatura constante de 37° C. El peso de los cortes de hígado osciló entre 45 y 70 mg. Aproximadamente 140 mg de tejido se incubaron en 2 ml de solución Krebs-Ringer fosfato (pH 7,4) con glucosa 10<sup>-2</sup> M, se gasearon con O<sub>2</sub> durante diez minutos y se colocaron en el baño con agitación. Diez minutos más tarde, se hizo la lectura manométrica inicial, y desde este instante, se midieron los cambios gaseosos sucedidos en los cortes a los 30 y 60 minutos, respectivamente.

El glucógeno fue determinado por una modificación del método de la antrona (2) y los lípidos totales por el método de CLARK (1). La mayoría de las determinaciones de actividad respiratoria se hicieron por duplicado, al igual que las de lípidos totales. Para glucógeno, se tomaron 3 ó 4 porciones de 10 a 20 mg de un mismo hígado, pero de zonas o lóbulos distintos, para hacer luego en cada una de ellas la correspondiente valoración. Las preparaciones histológicas (método de hematoxilina-eosina) y el diagnóstico anatomopatológico de las mismas fue realizado por el Servicio de la Cátedra de Anatomía Patológica de la Facultad (Prof. Aguirre Viani). El análisis estadístico de los datos se hizo aplicando el t-test de Student.

### Resultados

En cada uno de los grupos de animales tratados con etionina o con etionina más silimarina, sólo seis sobrevivieron. Los hígados de las ratas etionínicas mostraron el aspecto típico de la degeneración grasa (color pardo amarillento, consistencia más blanda), mientras que los de animales inyectados con etionina más silimarina mantuvieron un color y una imagen macroscópica similar a los controles.

En la figura 1 se observa el aspecto mi-

croscópico de las lesiones hepáticas debidas a la etionina. El tejido ha perdido su estructura, hay infiltración de los espacios porta, abundantes vacuolas, gotas de grasa y zonas de necrosis con células de núcleo picnótico, sin nucléolos. Las características de los hígados de ratas que recibieron etionina más silimarina son fáciles de evidenciar (fig. 2). El tejido conserva su estructura, la infiltración de los espacios porta es muy escasa, presentando células con núcleo grande y binucleadas, típico de un órgano o tejido en fase de regeneración.

Los cortes procedentes de ratas tratadas con etionina tienen una actividad respiratoria que es casi la tercera parte del valor control (tabla I). El propilenglicol apenas modifica, por sí solo, tal actividad. En animales inyectados con etionina más silimarina, la cantidad de oxígeno consumido es aproximadamente el doble del consumido por los que únicamente han recibido etionina, aunque permanece siendo inferior a la del correspondiente control. En todos los casos, la tasa de consumo de O<sub>2</sub> se mantuvo lineal con el tiempo.

Tabla I. Consumo de O<sub>2</sub> ( $\mu$ l/100 mg de tejido) de los cortes de hígado de ratas normales y tratadas con etionina o con etionina + silimarina.

		A los 30 min	A los 60 min.
Control	(6)	83,10 ± 3,5	154,22 ± 6,86
(sol. salina)			
Etionina	(15)	30,96 ± 6,94	57,65 ± 13,50
Control	(6)	79,20 ± 4,4	148,10 ± 10,1
(sol. sal. + p. glicol)			
Etionina + silimarina	(15)	56,43 ± 6,15	101,48 ± 12,06

Los valores son la media ± el error standard. Entre paréntesis, número de determinaciones. Las condiciones experimentales son descritas en Material y Métodos. Las diferencias entre controles no son significativas. Resto de los datos comparados grupo a grupo,  $p < 0,01$ .

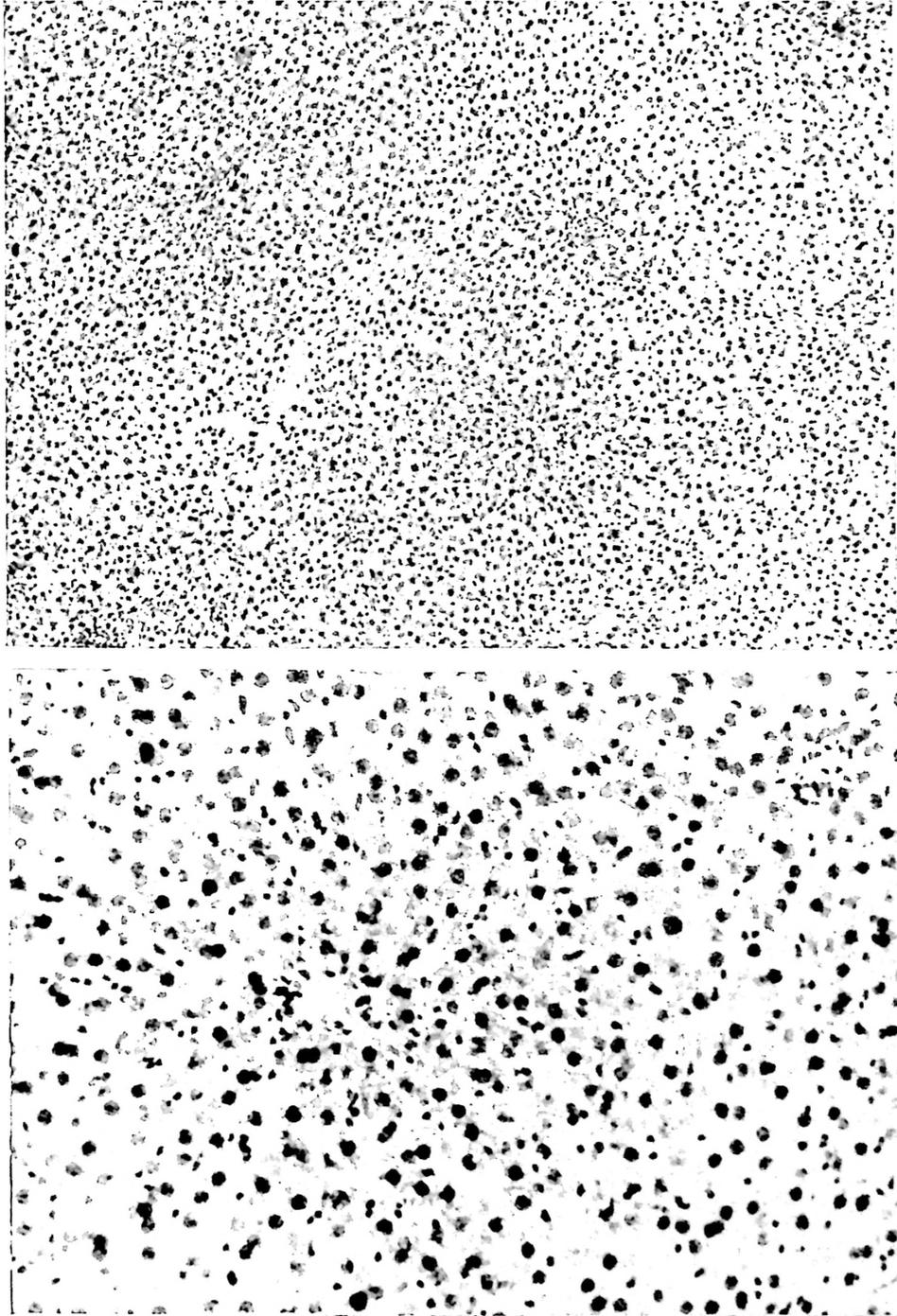


Fig. 1. *Aspecto microscópico de preparaciones de hígado de ratas tratadas con etionina.*  
Parte superior: X40; parte inferior: X400.

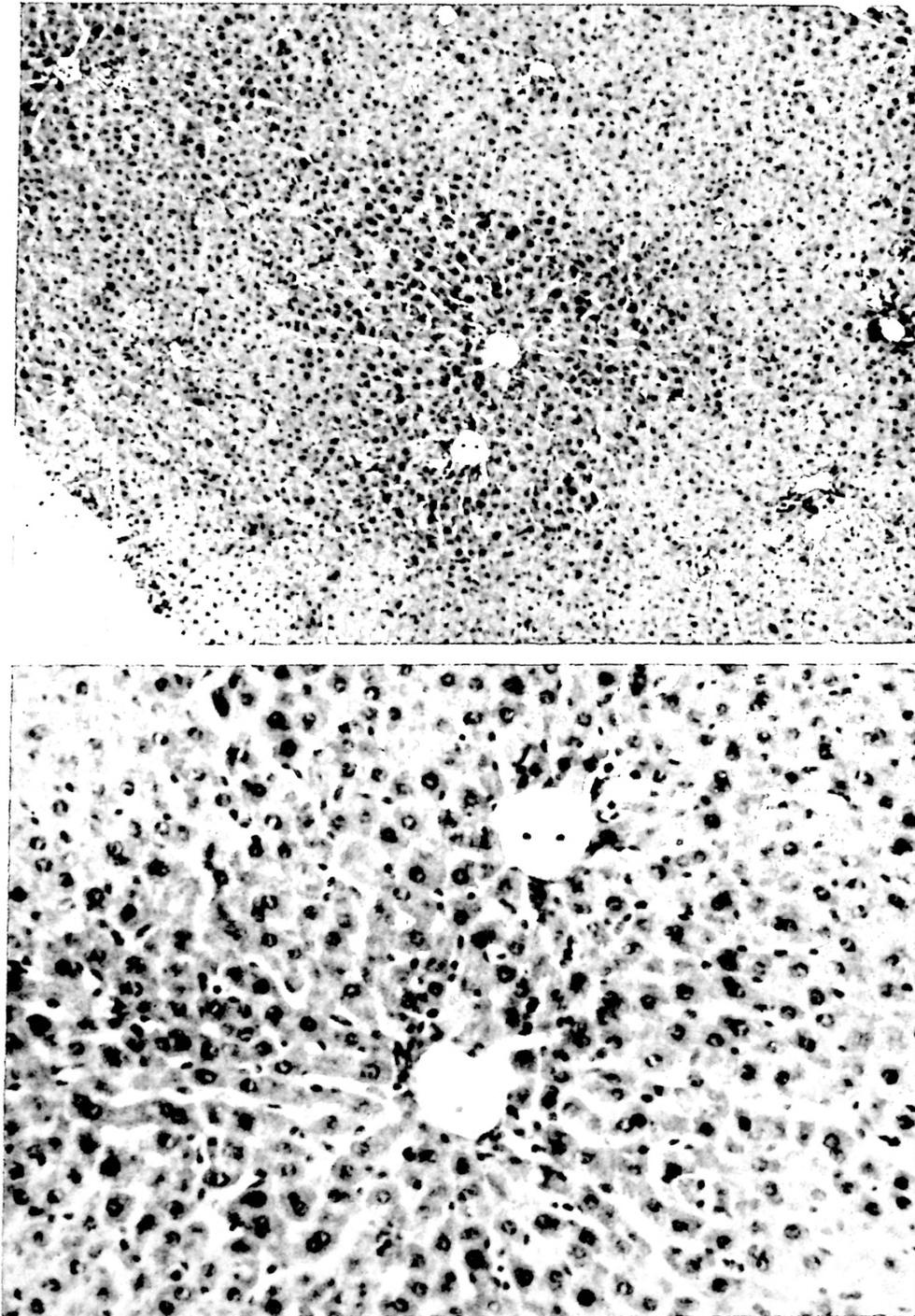


Fig. 2. Aspecto microscópico de preparaciones de hígado de ratas tratadas con etionina más silimarina.

Parte superior:  $\times 40$ ; parte inferior:  $\times 400$ .

Tabla II. Contenido en lípidos totales y glucógeno (mg/g de tejido) del hígado de ratas normales y de ratas tratadas con etionina o con etionina + silimarina.

Los valores son la media  $\pm$  el error standard. Entre paréntesis, número de determinaciones.

	Control (sol. salina)	Etionina	Control (sol. sal. + p. glicol)	Etionina + Silimarina
Lípidos totales	65,19 $\pm$ 5,5 (5)	139,94 $\pm$ 15,8 (10)	68,13 $\pm$ 3,7 (5)	69,20 $\pm$ 2,24 (10) *
Glucógeno	9,5 $\pm$ 0,5 (18)	0,44 $\pm$ 0,12 (16)	8,8 $\pm$ 0,7 (18)	3,54 $\pm$ 0,34 (16)

\* No significativo respecto al control. Tampoco son significativas las diferencias entre controles. Resto de los datos comparados grupo a grupo,  $p = 0,005$ .

En la tabla II se recogen los datos sobre el contenido en glucógeno y lípidos totales de los hígados de ratas controles y experimentales. El grupo de ratas etionínicas presenta una cifra muy elevada de lípidos totales y un marcado descenso del nivel de glucógeno. Por el contrario, en los animales que recibieron etionina más silimarina, los lípidos totales se mantienen a la altura del valor control y la tasa de glucógeno ha aumentado considerablemente en comparación con la cantidad encontrada en los animales con etionina solamente. El propilenglicol produce unas variaciones muy ligeras, que no son significativas.

### Discusión

Los resultados de nuestros experimentos son demostrativos de las profundas lesiones hepáticas que aparecen en ratas hembras sometidas a un tratamiento breve e intensivo de etionina, aunque es posible que otros órganos resulten también dañados (1).

El hecho de que la etionina bloquee la síntesis proteica, quizás a través de la formación de algún complejo de adenosil-etionina, podría servir de base del mecanismo responsable de la potente inhibición de la actividad respiratoria que se encuentra en los cortes de hígado de ratas hembras tratadas con dicha sustancia. Un compuesto de esa naturaleza ha sido aislado (8) en el hígado de algunos animales alimentados con etionina y ha resultado ser, además, un tóxico o depresor de la

actividad respiratoria de suspensiones de mitocondrias aisladas y obtenidas de distintos tejidos y especies.

Como las alteraciones histológicas prácticamente desaparecen en los animales que recibieron etionina más silimarina y como, además, los niveles de glucógeno y lípidos totales parecen parcialmente recuperados, se puede pensar que la silimarina, de alguna manera, ayuda a reparar los daños causados en el hígado por la etionina. Los detalles de este proceso son, por el momento, desconocidos.

### Resumen

Cortes de hígado obtenidos de ratas tratadas con etionina muestran una actividad respiratoria fuertemente inhibida. Presentan, además, alteraciones histológicas (metamorfosis grasa) y bioquímicas (gran aumento de los lípidos totales y pérdida de glucógeno).

En cortes de hígado de ratas tratadas con etionina más silimarina, el consumo de oxígeno es casi normal, las lesiones histológicas no aparecen y los cambios bioquímicos son mucho más leves.

### Bibliografía

1. CLARK, J. M.: En «Experimental Biochemistry». W. H. Freeman and Co., San Francisco, 1964.
2. DELPHIA, J. M., SHING, J., BUTLER, L. y BASKIN, H.: *J. Anat. Soc. India*, **16**, 12, 1967.
3. FARBER, E., SIMPSON, M. V. y TARVER, H.: *J. Biol. Chem.*, **182**, 91, 1950.
4. FARBER, E. y CORBAN, M. S.: *J. Biol. Chem.*, **233**, 625, 1958.

5. LUPU, C. I. y FARBER, E.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **86**, 701, 1954.
6. SHULL, K. H.: *J. Biol. Chem.*, **237**, PC 1734, 1962.
7. SPAIN, J. D. y GRIFFIN, A. C.: *Cancer Res.*, **17**, 200, 1957.
8. STEKOL, J. A., MODY, U., BEDRAK, E., KELLER, S. y PERRY, J.: *Fed. Proc.*, **19**, 37, 1960.
9. UMBREIT, W. W., BURRIS, R. H. y STAUFFER, J. F.: *Manometric Techniques*. Burgess & Publ. Co., Minneapolis, 1957.
10. VILLA-TREVIÑO, S., SHULL, K. H. y FARBER, E.: *J. Biol. Chem.*, **238**, 1757, 1963.