



T.D  
D/12

LESIONES HEPATICAS POR DIMETIL-AZOBENCENO.  
INTERACCION CON SILIMARINA Y ACIDO OROTICO.

Tesis doctoral presentada por  
el Licenciado José Antonio Durán  
Quintana para optar al Grado de  
DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUJIA.

Sevilla, 1.977

I. AGRADECIMIENTO.

"... en la Ciencia, no existe progreso ninguno que no sea obra colectiva..."

( J. ROSTAND )

En justicia, deberían ser mencionadas aquí todas aquellas personas que -en mayor o menor cuantía y directa o marginalmente- han contribuido a que esta Tesis Doctoral sea una realidad. Ello no es posible porque, de hacerlo así, debería recordar a cuantas han influido en mi formación.

Sin embargo, no queremos dejar de rendir tributo de agradecimiento, con acento muy especial, al Prof. D. Gabriel Sanchez de la Cuesta, Maestro de científicos humanistas y paradigma de convivencia. Sin su generosidad no hubiéramos podido recorrer el camino que nos ha traído hasta esta situación de doctorando. Sus Profesores Adjuntos -Dra. Madrazo y Tallón- complementaron nuestra preparación farmacológica.

También al Prof. Felipe Sanchez de la Cuesta y a los Doctores Oporto y Aznar, desprendidos y entrañables amigos, quienes han sido báculo y farol en el desarrollo de este trabajo. Sus consejos orientadores, su apoyo en momentos de desfallecimiento y su constante estímulo para la realización de esta Tesis, me serán imposibles de olvidar y difíciles de corresponder.

Igualmente sería injusto olvidar a R. Fernández, Veterinario del Servicio de Animales de nuestro Hospital Universi

4

torio; a los Alumnos Internos de la Cátedra J. J. Lahera  
y J. M. Jiménez y a la Auxiliar de Laboratorio Concep—  
ción de Juan

A todos, otra vez gracias.



**II. CONFORMIDAD DEL DIRECTOR DE LA TESIS.**



GABRIEL SANCHEZ DE LA CUESTA; Catedrático de  
Farmacología y Terapéutica General.

CERTIFICO que la Tesis Doctoral denominada  
LESIONES HEPATICAS POR DIMETIL-AZOBENCENO.  
INTERACCION CON SILIMARINA Y ACIDO OROTICO,  
presentada por el Licenciado José Antonio Durán  
Quintana, ha sido realizada bajo mi dirección.

Y así lo hago constar, para que surta los efectos  
oportunos, en

Sevilla, a 1 de Marzo de 1.977

Prof. Dr. D. Gabriel Sánchez de la Cuesta.

III. RESUMEN.

La hipótesis inicial de la presente Tesis Doctoral se concreta en la dudosa eficacia que poseen los fármacos denominados -con inexactitud y ambigüedad- protectores hepáticos. El enorme costo que tal medicación supone, agrega un importante factor económico a la necesidad que existe de encontrar drogas verdaderamente útiles en las hepatopatías.

Es imprescindible, por tanto, contar con el modelo experimental que nos permite reproducir la patología a tratar. La dieta carencial asociada a un colorante tóxico ("butter - yellow"), con capacidad para interferir el metabolismo del hepatocito, nos parece el más idóneo para ello.

Una vez conseguida la lesión animal, superponible a la que aparece en clínica humana, hemos estudiado el comportamiento que sobre ella tienen dos drogas reputadas como hepatotropas; el ácido orótico y la silimarina.

Para el desarrollo del trabajo se han agrupado los animales en distintos lotes, atendiendo a su sexo, tipo de dieta, terapéutica instaurada y duración de la experiencia. Al final de la misma se ha obtenido un perfil clínico, bioquímico y morfológico, basándose en:

- Peso de los animales
- Parámetros analíticos en tejidos hepáticos
- Determinaciones plasmáticas
- Anatomía patológica del hígado



Los resultados se han sometido al oportuno tratamiento estadístico concluyendo que:

- El modelo farmacológico utilizado es útil por cuanto:

- . tiene capacidad hepatolesional
- . el grado de la lesión se halla en función del tiempo.

- Ninguna de las dos drogas utilizadas son capaces de antagonizar la producción de lesiones.

IV. INTRODUCCION.

#### IV. 1/ Justificación

Distintas razones fundamentan el porqué del presente estudio:

En primer lugar, el seguir profundizando en una línea de investigación muy frecuentada en la Cátedra a la que me honro pertenecer. Los trabajos anteriores que sobre el tema han publicado estimados compañeros, avalan la afirmación precedente.

La aceleración en la evolución de los conocimientos biológicos, tan notable en nuestros días, se cumple también en la parcela de la Medicina. Los nuevos conceptos, aún antes de que se hayan decantado, no hacen sino plantear otros interrogantes a los que es preciso responder. Somos conscientes de ir perdiendo visión de conjunto a medida que nos polarizamos en una determinada dirección heurística. Sin embargo, consideramos la necesidad de mantener una trayectoria que permita agotar el tema elegido. Con seguridad que se trata de una actitud modesta, pero quizás sea la única que tenemos para aportar algo verdaderamente original.

De otro lado, no estamos convencidos de que un elevado número de drogas, anunciadas por la propaganda farmacéutica como "hepatoprotectoras", sean realmente útiles en el tratamiento de las enfermedades hepáticas.

Efectivamente, bajo este epígrafe se engloban sustancias de muy diferente configuración y con mecanismo de acción oscuros ó, cuanto menos, inespecíficos.

También llama la atención, que no exista ni un sólo tratado de Farmacología-nacional ó extranjero; absoluto ó actualizado -que incluya en su descriptiva un capítulo referido a tales fármacos ( \* ). Finalmente, tampoco se debe olvidar el despilfarro que supone para la economía del país el elevado consumo anual de una medicación carente de base científica.

Conviene recordar también, en frase del padre de la Medicina Experimental, C. BERNARD (13), que "una experimentación no es sino una observación provocada".

La finalidad de esa provocación puede ser múltiple. Para el farmacólogo en concreto, se trataría de un medio racional de trabajo con el que poder valorar el cuá, el cuánto y el cómo de la acción de las drogas en una determinada patología. Existen muchas formas en el laboratorio de producir una lesión hepática. Cada una de ellas presenta unas ventajas y unos inconvenientes. Quizás el denominador común a todas sea el conseguir un resultado final superponible a la morfopatología que se presenta en clínica humana, pero sin pasar los estadios evolutivos intermedios. Sin embargo, las lesiones producidas en el hígado por una dieta carencial (de arroz) adicionada con un colorante tóxico ( "butter - yellow" ), cumplen ese requisito y por ello la hemos elegido.

( \* ) En la Cátedra a la que pertenecemos, al desarrollar el programa de la asignatura, se incluye un capítulo al que, denominamos -dubitativamente- "Bases farmacológicas para la valoración de hepatoprotectores".

Finalmente, una vez conseguida el efecto lesivo sobre la víscera hepática, podemos ya administrar las drogas a es tudiar y así valorar su eficacia.

El ácido orótico es un compuesto que, como tal ó en forma de alguna de sus sales, forma parte de muchos preparados hepatotrópicos. Precisamente por su mecanismo de acción, estimulando la biosíntesis de nucleoproteínas, re sulta útil en procesos parenquimatosos difusos de carácter inflamatorio ó neurótico. Sin embargo, por la misma razón puede malignizar una lesión degenerativa (cirrosis, por ejemplo) hasta entonces estabilizada.

La otra cara del problema viene dada por la interacción de la silimarina sobre la patología hepática inducida. Por su origen, estructura química y mecanismo de acción, posible mente sea la primera sustancia con auténticos efectos hepá tototéricos.

IV. 2/ Crítica de los mal llamados protectores hepáticos

El término de hepatoprotector -también protector hepático- es lo suficientemente ambiguo, como para poder adjudicárselo a un elevado número de medicamentos.

Ten es así, que con esa etiqueta han circulado entre los médicos una serie de productos, cuya única virtud terapéutica era la de responder a una determinada moda, de duración más ó menos efímera. De esa manera, y sin demasiado espíritu crítico, han desfilado por la Hepatología distintos grupos de vitaminas, combinaciones de aminoácidos, bases nitrogenadas, extractos purificados de hígado, etc, etc.

Existe, sin embargo, una razón que explica el alto predicamento de que gozan estas drogas entre los clínicos. Nos estamos refiriendo a la actitud apriorística que deriva de su uso. Efectivamente, la sensación de impotencia -en cuanto al tratamiento- que se tiene ante una hepatopatía parenquimatosa difusa, se ve en parte paliada con la prescripción de un fármaco que nos llega con reputación de eficaz agente hepatoprotector.

La terapéutica con sulfonilureas de la esteatosis hepática, que despertó iniciales esperanzas no se mostró superior -HORBACH (60)<sup>al</sup>-tratamiento exclusivamente dietético. Evidentemente la cirrosis hepática y la hepatitis crónica agresiva mejoran con la administración de corticosteroides, pero ello es debido a su acción sobre el componente patogénico de autoinmunidad que presentan tales afecciones y no a su efecto directo sobre el hepatocito. Igualmente se muestran eficaces -clínica e histológicamente- los citostáticos en las mismas entidades clínicas que

antes nos hemos referido y por similares razones.

Sin embargo, por su mecanismo de acción, tales drogas no son consideradas como protectores hepáticos.

Hemos revisado un reciente texto de Farmacología aplicada (138), de gran consulta, buscando el número total de hepatoprotectores que recoge.

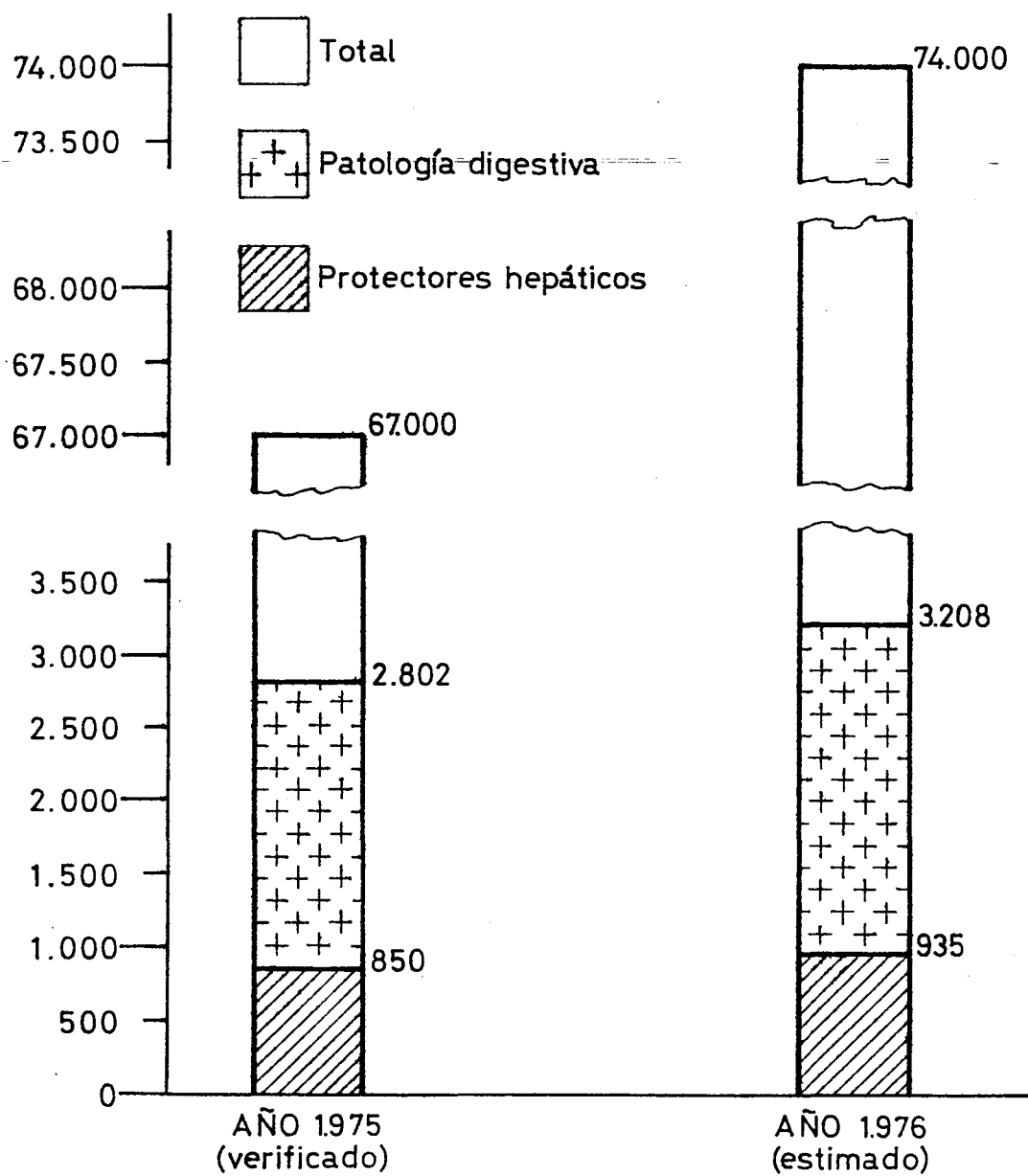
De un total aproximado de 7.400 productos, hemos filiado 222 que, bajo una y otra indicación ( \*) se aconsejan -según el texto- en la protección del hígado lesionado. Ello significa que 3 de cada 100 (3%) medicamentos reseñados corresponden al capítulo que estamos cuestionando.

Por otro lado, como mostramos en la Figura 1, el gasto anual de millones de pesetas que supuso para la economía nacional el consumo total de medicamentos -con sus fracciones correspondientes a Patología Digestiva y Hepatoprotectores- es realmente abrumador. Esos 935 millones que reflejan el consumo esperado de protectores hepáticos, son un dato más que nos debe mover a la reflexión.

El problema no es sólo de nuestro país y, así, Cl. BERAUD (12) comunica un consumo en Francia, de tratamiento en afecciones hepatobiliares, que supone el 4,8 % del total del gasto en medicamentos.

---

( \*) cirrosis, hepatitis agudas, h. crónicas, detoxicantes hepático, insuficiencia hepática, hepatopatías, disfunción hepática, hepatoprotector, etc.



Valor, en millones de pesetas, de los medicamentos vendidos en España durante los años 1975-76 (Datos IMS).

Fig. 1



17

Choca comprobar, que hepatólogos e internistas de gran prestigio tengan un criterio, sobre este grupo de sustancias tan radicalmente diferente de lo que cabría esperar al hacer una valoración de las cifras antes referidas.

Así, SHERLOCK (131) opina que no ha habido avances revolucionarios en el tratamiento de las hepatopatías inflamatorias agudas y que las medidas médicas alteran poco el curso de la enfermedad. KNIGHT (71), por su parte, corroboran la ineficacia de los fármacos en tales procesos. De manera indirecta, GALAMBOS (45) abunda en lo anteriormente expuesto cuando nos recuerda la irreversibilidad de ciertas hepatopatías —una vez establecidas— bajo ningún tratamiento. Entre nosotros, GOMEZ y Cole (51) asegura que el número tan alto de hepatoprotectores, no hace sino cubrir la falta de auténticos preparados con efecto sobre el hígado.

Para FULL SEGURA (115) el tratamiento de las enfermedades hepáticas sigue siendo fundamentalmente empírico, lo que explica la evidencia con que son recibidas las novedades medicamentosas en este campo de la Medicina.

Dentro del denominador común de dudar de la eficacia de las distintas terapéuticas, también existen diferentes criterios para enjuiciar la postura más oportuna ante una hepatitis viral aguda, lo que aumenta la confusión. TAMBURO y LEEVY,<sup>(136)</sup> y QUEDA y PERRIN,<sup>(100)</sup> conceden una gran importancia a las medidas higiénico-dietéticas generales (régimen, reposo en cama, control evolutivo, etc), mientras otros —como GALAMBOS (44) —niegan la utilidad de tal proceder (¡¡imaginemos su opinión sobre los protectores hepáticos!!)

En el caso de la cirrosis, todavía es más pobre la opinión que a los distintos investigadores les merecen las drogas anunciadas como útiles. Para SCHAFFNER (122), el mejor tratamiento es su prevención. BOYER (16) se limita a la eliminación de posibles agentes lesivos y a control preventivo de complicaciones. JONES (64) amplía el concepto anterior con una dieta adecuada y un oportuno régimen de vida.

Igualmente llama la atención, la discordancia que existe entre el número tan alto que existe de estas sustancias y la escasez con que las publicaciones nacionales y extranjeras hacen referencia a ella.

Relacionado con lo que decimos está el curioso estudio de GIMENEZ y MARSET (49) en el que se demuestra que el tema genérico de "Hígado" (incluyendo sólo los subcapítulos de fisiopatología, exploración, clínica y diagnóstico) ocupa el 29,48 % del total de trabajos publicados en las revistas médicas españolas sobre Patología Digestiva. Por el contrario, la terapéutica de las Digestivopatías en general cubre sólo el 5,02 % de ese mismo total. Aunque dicho autor no refiere la cifra que tal porcentaje anterior corresponde a la Terapéutica de las Hapatopatías, fácil resulta suponer que no ha de ser muy elevado.

Por nuestra parte, hemos revisado las publicaciones periódicas, relacionadas con la Farmacología y la Terapéutica, buscando trabajos que hagan referencia no ya a hepatoprotectores, sino a terapéutica de las afecciones hepáticas. En concreto, hemos visto las siguientes publicaciones:

- "Actualités pharmacologiques" ( 2 )
- "The Japanese Journal of Pharmacology" ( 63 )
- "Archivos de Farmacología y Toxicología" ( 4 )
- "Pharmacological Reviews" ( 102 )
- "The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics" ( 65 )
- "Naunyn -Schenck's Archives of Pharmacology" ( 97 )
- "British Journal of Pharmacology" ( 18 )
- "European Journal of Pharmacology" ( 37 )

También, con la misma finalidad, hemos revisado los siguientes textos:

- "Manual de Farmacología" ( 76 )
- "Farmacología médica" ( 54 )
- "Pharmacologie" ( 125 )
- "Farmacología y su proyección a la Clínica" ( 82 )
- "The Pharmacological Basis of Therapeutics" ( 53 )
- "Medical Pharmacology" ( 28 )

Pues bien, por increíbles que parezca, no hemos encontrado ni un sólo artículo sobre el tema en las revistas referidas, y los libros de texto ignoran ese capítulo. Menor base científica sobre el empleo de los hepatoprotectores no cabe.

Vemos, pues, que con demasiada frecuencia se nos presentan como genuinas drogas hepatoprotectoras, fármacos con punto de acción hepático de mecanismo puramente sustitutivo. En realidad, la eficacia de tales drogas ante un masivo derrumbamiento de la Hepatona es nulo.

Sin embargo, somos conscientes de la dificultad que plantea la valoración objetiva del efecto de las medidas terapéuticas en el curso de las hepatopatías parenquimatosas difusas. Ello se debe a una causa doble:

- Por un lado, gran número de enfermos evolucionan con una personalidad propia, al margen de la terapéutica instaurada. Que esa evolución se haga hacia la curación ó hacia otro proceso hepático, a título de secuela subsidiaria - del primero, resulta marginal en la cuestión que examinamos.
- Pero, además, el desconocimiento que aún tenemos sobre la etiopatogenia de estas enfermedades, nos imposibilita para buscar una respuesta terapéutica debidamente fundamentada. En efecto, bajo un esquema morfológico común, - englobamos entidades de distintas causa y distinto mecanismo de producción que, como es lógico, no pueden ser tratadas de las mismas manera.

En resumen, a pesar del bombardeo que la industria farmacéutica lanza diariamente sobre el clínico, seguimos sin contar con un producto que resulte claramente eficaz en las hepatopatías parenquimatosas difusas. Esa realidad debe ser tomada en un sentido positivo, es decir, como un desafío que los farmacólogos del mañana han de resolver.

#### IV. 3/ Estudio del modelo experimental utilizado

##### 1/ LA DIETA CARENCIAL

Para introducir un factor coadyuvante del tóxico, hemos alimentado a los animales de la experiencia con una dieta carencial como es el arroz. En la Tabla de la página siguiente, tomada de GARCIA BLANCO (46), se demuestra la composición química del arroz utilizado en nuestra experiencia como alimento base y su comparación en relación a otros alimentos.

Considerando como una leguminosa seca, (de ahí su paupérrimo contenido en agua), libera a expensas de su alto componente hidrocarbonado, calorías suficientes como para constituir el fundamento de una dieta. Además, por su escasa proporción proteica, la ingesta exclusiva de arroz, configura una pauta nutritiva monótona y desequilibrada. Por otra parte, al administrar grano descascarillado privamos al animal de las vitaminas del grupo B (habitualmente presentes en su envoltura), que podrían ejercer un efecto beneficioso sobre las lesiones provocadas.

DEO y RAMALINGSWAMI (27) han demostrado, en monos macacos alimentados crónicamente con dietas pobres en proteínas, cómo esos animales hacen una infiltración grasa del hígado de manera similar a lo que ocurre en clínica humana (50).

RUMACK y cols. (116) han comprobado, en experiencias sobre animales, la repercusión desfavorable que sobre el metabolismo hepático de las drogas tienen la malnutrición proteica crónica. Hubo un descenso, estadísticamente significati

COMPOSICION QUIMICA DE LOS ALIMENTOS

	<u>Agua</u>	<u>Proteinas</u>	<u>Lípidos</u>	<u>H.C</u>
Chuletas	70	19,5	9	-
Pollo	68	20	11	-
Merluza	79,5	17	2,5	-
Sardina	75,2	20	5,8	-
Huevos enteros	74	12,8	11,5	0,7
Queso (Cabra)	35	33	16	15
Arroz	11,8	8,2	0,4	79,3
Patata	77,8	2,0	0,1	19,1
Naranja	87,1	0,9	0,2	11,3
Avellanas	6	12,6	60,9	18
Pan blanco (trigo)	36	8,5	2	52
Aceite de oliva	0	0	99,4	0,2
Azúcar	3	0	0	96

vo, de la biosíntesis de las proteínas enzimáticas microsoma-  
les y de la actividad del citocromo P-450 reductasa  
(principal componente de las oxidetas responsables de la  
hidroxilación de las drogas). En consecuencia, ellos postu-  
lan la necesidad, en la clínica, de reducir las dosis de  
las drogas ante una situación similar a la de la experimen-  
tación.

Corroborando lo anterior, LEEVY (79) defiende que en los  
hepatópatas existirían déficit proteico que explicaría la  
mala tolerancia para algunas drogas.

## 2/ EL TOXICO HEPATICO

Está fuera de dudas el problema que supone extrapolar a la clínica humana, los resultados obtenidos en una experimentación de laboratorio. Máxime si, como ocurre en Patología Digestiva, las más importantes enfermedades hepáticas son difícilmente reproducibles en el ensayo animal.

Al margen de otros factores casi ausentes en el laboratorio y muy evidentes en el ser humano (especie muy evolucionada, influencia del medio ambiente, componente psicológico-individual, etc...), queremos destacar la marcada influencia que en el hombre puede jugar el concepto desarrollado por BRAHL (20). Para él, en cada individuo existiría un factor personal -de índole genética- responsable de las distintas maneras de responder ante la misma noxa. En los animales de laboratorio, en virtud de lo cerrada que es su procreación, el factor referido no sería individual sino colectivo, con lo que responderían igual todos los componentes del grupo ante la misma noxa patógena.

A pesar de las consideraciones anteriores, válidas en cuanto a rigor conceptual, existen una serie de circunstancias clínico-patológicas que nos obligan a buscar el medio de hallar una manera válida de estudiar la lesión hepática y sus posibles soluciones terapéuticas. Quizás la transformación neoplásica de las cirrosis evolutivas -con el consiguiente ensombrecimiento de la evolución y pronóstico de las hepatitis mal tratadas- sea la más importante de todas.



Pero, a pesar de conocerse muchas maneras de dañar experimentalmente la víscera hepática, no existe ninguna que nos satisfaga plenamente porque las usuales:

- provocan lesiones agudas e, incluso, exitus letalis. Tales es el caso, por ejemplo, del halotano, tetracloruro de carbono, etc...
- no se puede seguir su evolución anatómo-patológica, al estar comprimido el desarrollo de la misma en pocos días.
- con frecuencia sólo se consiguen alteraciones parciales del hígado, como en la ablación quirúrgica segmentaria del mismo, lo que no nos permite superponerlo a las hepatopatías parenquimatosas difusas que aparecen en clínica.

Creemos que el para-dimetil-azobenceno (\*), que hemos elegido como tóxico hepático, nos evita los anteriores inconvenientes ya que:

- induce lesiones difusas del parénquima.
- permita la constatación de la evolutividad afecto inicial cirrosis neoplasia.
- hace posible, por su duración, un control anatomopatológico seriado a lo largo de esta evolución.
- proporciona un método comparativo de lo que se desarrolla en la experiencia con lo que ocurre en el enfermo.

---

(\*) También denominado "Butter - yellow" ó "amarillo de mantquilla" por haberse utilizado durante algún tiempo por la industria de las margarinas, para colorear sus productos.

En opinión de OPORTO y cols (99) son de sobre conocidas las acciones carcinogénicas experimentales que, sobre el hígado, ejercen diversos derivados del azotolueno. SPELLBERG (132) refiere esta capacidad para el orto-amino-azotolueno y el 4-hidroxi, 2-3, azotolueno. Por otro lado, como recoge ROBBINS (112), algunas aminas aromáticas son también carcinógenas potentes. Las mejores estudiadas son el N, N-dimetil-4-aminoazobenceno (DMAB), el N-metil-4-aminoazobenceno (MAB), el 2-acetil amino fluoreno (AAF) y la 2-naftilemina. KINSITA (67, 68, 69) comunica la aparición de hepatomas y colangiomas a los 90 días de administrar "butter-yellow" a los animales de laboratorio.

El hecho de que los colorantes azonitrogenados sean carcinógenos hepáticos y no en el tubo digestivo (32), cuando su vía de administración es oral, sugiera que la capacidad inductora de neoplasias la adquirieran a través de su transformación en metabolitos activos. Como demostraron MILLER y MILLER (88, 89) estas sustancias fueron las primeras en que se objetivó la necesidad de la conversión metabólica antes de volverse carcinógenas. Distintos autores MILLER y cols (90), ISHIDATE y cols (62), SATO y cols (121), MARRQUIN y cols (84), WARWICK y cols (146) se han ocupado del metabolismo de los colorantes nitrogenados con capacidad tumoral. Para DMAB las posibilidades son las siguientes:

- Reducción de la unión nitrogenada.
- C-hidroxilación
- N-demetilación
- N-hidroxilación

- Unión a los ácidos nucleicos.
- Unión a las proteínas.

Según parece, sólo las tres últimas modificaciones confieren a DNAB capacidad neoplásica, mientras que las tres primeras son simples reacciones detoxicantes como lo demuestra la eliminación de sus productos pertinentes en forma de sulfatos, glucuronatos y acetatos.

La semejanza estructural entre estos colorantes y las aminas aromáticas carcinógenas obliga a pensar que los metabolitos activos son derivados N-hidroxiados. En este sentido, DU PLOOY y DIJKSTRA ( 31 ) observaron que se podían obtener muy precozmente (4horas), tras la administración oral de DNAB, un elevado porcentaje de derivados 4-hidroxiados de DNAB y MAB (Recordemos que la 4-hidroxiación corresponde a una N-hidroxiación del anillo pirimidínico de su molécula). Por su lado, SATO y cols ( 121 ) obtienen un derivado hidroxilado, el N-hidroxi-N-acetil-aminoazobenceno (N-OH-AAB), no mostró capacidad cancerígena ni por vía subcutánea, ni por vía intraperitoneal, ni por vía oral.

Para MATSUSHIMA y WEISBURG ( 85 ) la actividad neoplásica de los metabolitos N-OH guarda relación con su fijación covalente al C-8 de la desoxiguanosina, aunque también se fija al RNA y a las proteínas. Para MIYAKI y cols ( 91 ) la acción cancerígena del "butter-yellow" se basa en la capacidad que tiene de fijarse a las proteínas plasmáticas. LAWSON ( 78 ) asegura que los colorantes azonitrogenados en general -él ha trabajado con el orto-amino-azobenceno- tienen tendencia a fijarse en las proteínas y DNA hepáticos; fijación que

es mucho mayor para el DNA (persiste hasta 64 días) que para las proteínas (sólo 28 días).

No debemos olvidar, sin embargo, que hace falta algo más que la N-hidroxilación para que los derivados de DNAB sean carcinógenos activos; nos estamos refiriendo a la presencia en su molécula, como demostraron ARCOS y SIMONIS ( 5 ) de un radical N-metilo. KINOSITA ( 69 ) y MILLER ( 88 ) abonan en parte el criterio anterior cuando confirman que el DNAB necesita para su actividad tener al menos un radical metilo sustituido en su grupo amina. BROWN y NANDAN ( 19 ) van todavía más lejos en este punto cuando aseguran que los derivados simetilados a los que se les introduce uno ó varios radicales metilos (bien en el anillo pirimidínico, bien en el bencénico) y los derivados distilados eran activos "per se", sin sufrir ninguna metabolización.

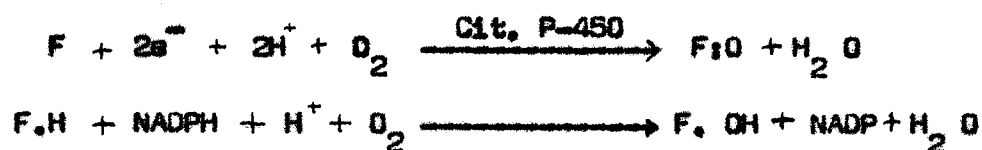
Estos potentes carcinógenos son fuertemente interaccionados por las diferencias dietas, como comprobó SUGIURA (133). Así, el arroz acelera el proceso, mientras que el trigo, el centeno y el mijo lo reducen; además, la levadura, el hígado, el riñón, aumentan la resistencia orgánica al desarrollo del tumor. También sufren interacción por drogas activas; de esas, la reoflavina, la cassina, la tiamina, la piridoxina, el ácido pentoténico, la cistina y la colina, protegen contra el efecto tóxico del "butter-yellow". Pero, paradójicamente, ciertos fármacos tenidos como hepatoprotectores -biotina, B12, metionina- parecen acelerarlo. Las consecuencias prácticas que la terapéutica de la cirrosis con estas sustancias conlleva, son fáciles de suponer.

### 3/ HIGADO Y DROGAS

Que el hígado es una viscera de función múltiple parece ofrecer pocas dudas. Considerado como el motor de la vida por los galenistas, ha sido imponiendo su primordial papel a medida que se profundizaba en su fisiología. LUISOT ( 83 ), por ejemplo, asegura que el 25 % del total de la glucosa biosintetizada en nuestro organismo se realiza en el laboratorio hepático, a partir del ácido láctico. En otro orden de cosas BOCK y cols ( 15 ) demuestran la gran reserva de capacidad funcional de éste organismo, cuando es capaz a las 4 horas de estar aislado y perfundido en un baño de experimentación de llevar a cabo funciones plásticas (síntesis de proteínas) y funciones degradatorias (oxidación del hexobarbital).

La interacción drogas-hígado es un capítulo de la Patología digestiva de reciente y desbordante desarrollo. Las biotransformaciones de los fármacos que alcanzan el interior del organismo, consiste en su conversión a sustancias polares, más fáciles de eliminar por el riñón.

Dichas transformaciones metabólicas ocurren, fundamentalmente aunque no de forma exclusiva, en el hígado a nivel de los microsomas que constituyen el retículo endoplásmico, como demostraron MELLER y MILLER ( 96 y 137 ) hace ya cerca de 30 años GILLETE y cols ( 48 ) evidenciaron que estas reacciones químicas consisten, en esencia, en la unión de la forma oxidada del citocromo P-450 microsomal con el fármaco. Sobre este complejo citocromo-droga actúa después el sistema NADPH<sub>2</sub> que reduce al P-450. La representación esquemática de dicha cadena reaccional sería;



En nuestro país se han dedicado, por numerosos autores, muchos trabajos a tan interesante interacción, pero merecen destacarse, en nuestra opinión, los de SANCHEZ DE LA CUESTA (119), LAPORTE ROSELLO (77) y GONZALEZ y CASTRO (52). Ellos coinciden en asegurar que tal reacción presenta dos vertientes complementarias; por un lado, las modificaciones cinéticas que pueden sufrir los fármacos en una hepatopatía y, por otro, la capacidad lesiva sobre el hígado que tienen una serie de drogas.

En relación con el primer punto, se puede concluir que las hepatopatías casi no influyen en el metabolismo de las drogas—prolongando su  $T_{1/2}$ — pero que de hacerlo, si la lesión es muy intensa, sería de poca cuantía y sin que suponga contraindicación alguna su empleo. A este respecto es muy demostrativo el trabajo de SESSIONS y cols (129). Sin embargo REMMER (110 y 111) describe como los sedantes y los hipnóticos, tanto experimental como clínicamente, tienen aumentado su efecto a expensas de prolongar el HBST (ver después en IV. 5/ ). No hay que olvidar, por otra parte que, en el hombre, al contrario que en los animales, es necesario una gran alteración del parénquima hepático para que repercuta sobre el metabolismo de los medicamentos, como demostró WILLIAMS (147 y 148). ESCARTIN y cols (34 y 35) mantienen que los cirróticos, cualquiera que sea su etiología, tienen una menor respuesta ante un estímulo, del tipo que sea, que un hígado sano.

En cuanto al segundo apartado—hepatopatías influenciadas por drogas— existe un abanico de posibilidades que va desde fármacos que alteran el normal fisiologismo del hígado, sin existir hepatopatía genuina, como ocurre con la inducción enzimática (\*), hasta drogas que producen una auténtica lesión hepática. De todas maneras, aunque existen numerosas listas

---

(\*) El fenómeno de la inducción enzimática hepática ha ampliado considerablemente los conocimientos sobre la farmacología de las drogas. REMMER (111) ha sido el investigador que más se ha ocupado de este curioso fenómeno biológico, cuyo descubrimiento fue posible buscando una explicación a la tolerancia que distintos individuos presentaban a la misma dosis de barbitúricos.

REMMER y MERKER (109, -), FOUTS y ROGERS (42) han evidenciado que tal hecho tiene un sustrato bioquímico (incremento de la biosíntesis de enzimas proteicos de los microsomas y de su actividad, sobre todo del citocromo P-450) y un sustrato histológico (hepatomegalia e hipertrofia del retículo endoplasmático liso de los hepatocitos). Tales modificaciones no sólo aparecen en animales de experimentación, sino que VON SEEBACH (143) los ha demostrado también en humanos.

La consecuencia de todo ello es una aceleración del metabolismo de las drogas, con acortamiento de su vida media, tanto en sanos como en hepatópatas. Ello puede ser altamente beneficioso por un lado, al poseer un arma contra una sobrecarga de compuestos tóxicos exógenos, pero también puede ser una fuente de producción de metabolitos tóxicos. —————→

---

de drogas hepatotóxicas en los textos de la Especialidad, se ha sobrevalorado la acción tóxica de las drogas sobre el hígado.

Así, MEERDF ( 87 ) clasifica las hepatopatías medicamentosas en:

- H. parenquimatosas, con lesión tóxica de la parte noble de la viscera.
- H. tóxico-alérgicas, en las que, sobre lo anterior, se in jerta una reacción inflamatoria.
- H. colangiolíticas, caracterizadas por colestasis intra hepática.

Para SHERLOCK ( 130 ), las reacciones farmacológicas indeseables que puede presentar el hígado son de tres tipos:

- Por interferencia del metabolismo de la bilirrubina.
- Por hepatotoxicidad directa.
- Reacciones de hipersensibilidad.

Existen dos maneras de valorar, en clínica, la inducción en zimática:

- midiendo la eliminación urinaria de 6-beta-17 hidroxicortisol, cuya tasa plasmática está elevada en caso de existir inducción. Autores como BRECKENRIDGE y DAME ( 17 ), BURNSTEIN y KLAIBRE ( 22 ), CONNEY y cols ( 24 ) y, sobre todo = KUNTZMAN y cols ( 73 , 74 , 75 ) han aportado estudios pertinentes a este respecto.
- cuantificando la eliminación urinaria del ácido D-glucórico, cuyos niveles plasmáticos están altos de existir = inducción enzimática hepática, como han demostrado con sus



Esta misma autora distingue 4 grupos diferentes, según el momento que la droga interfiere el metabolismo de la bilirrubina. Son:

- Aporte excesivo de hem (como ocurre, por ejemplo en las reacciones hemolíticas).
- Bloqueo de la captación de la bilirrubina por el hepatocito.
- Falta de conjugación de la bilirrubina en los microsomas hepáticos.
- Dificultad en el transporte intrahepático de la bilirrubina conjugada.

---

trabajos AARTS ( 1 ), FAHIM y cols ( 39 ), HUNTER y cols ( 61 ) y MOWATT ( 95 ).

IV.4/ El ácido orótico como droga hepatotropa

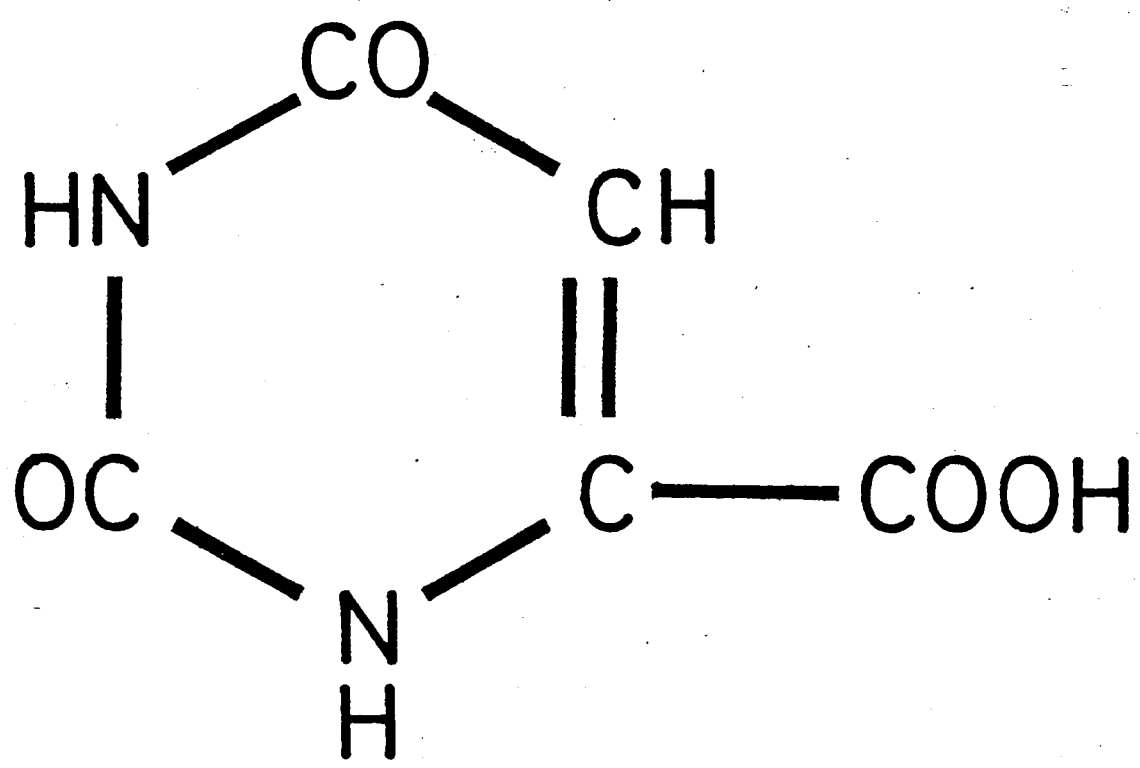
El ácido orótico fué descubierto en la leche de vaca, en 1903, por BISCARD y BELLONI. En este fluido biológico, en condiciones normales, alcanza concentraciones muy elevadas. Tanto que, en algunas especies, se han detectado niveles del orden de 400-500 mg/litro.

En 1930 logró BASCHETZ demostrar su constitución química y también su síntesis. Se trata, como muestra la Figura 2, del Uracil, 4 ácido carboxílico ó 2,6-dioxipirimidina, 4 ácido carboxílico. Existen, además -LORENZO VELAZQUEZ ( 81 )- numerosas sales del mismo, orotatos, obtenidos de forma sintética ó semisintética; de lisina, magnésico, de Aíca, etc.

Constituye para los mamíferos y vegetales superiores, un elemento de primordial importancia en la biosíntesis y metabolismo de las nucleoproteínas. De ahí su carácter de factor de crecimiento.

Sus efectos indeseables, al administrarlo prolongadamente, son nulos. Su toxicidad es prácticamente total.

El primer investigador que intuyó el preponderante papel del ácido orótico como antecesor de nucleótidos fué, hace casi 30 años, ARVIDSON y cols.<sup>(6)</sup> HURLEBERT y POTTER (ver 36 ), lograron demostrar que se trataba de un precursor de los depósitos orgánicos de pirimidinas, componentes básicos de los nucleótidos, ácidos nucleicos y nucleoproteínas. Por su parte, EULER y cols ( 36 ), confirman su papel en los "pools" de nucleótidos pirimidínicos, en animales de experimentación cuya dieta estaba suplementada con ácido orótico.



Acido OROTICO

(ácido uracil-6-carboxílico)

Fig.2

FAUSTO y cols ( 40 ) constatan una mayor actividad de la ornitina-decarboxilasa, enzima que interviene en la síntesis de pirimidinas, cuando administran ácido dihidro-orótico a ratas hepatotomizadas.

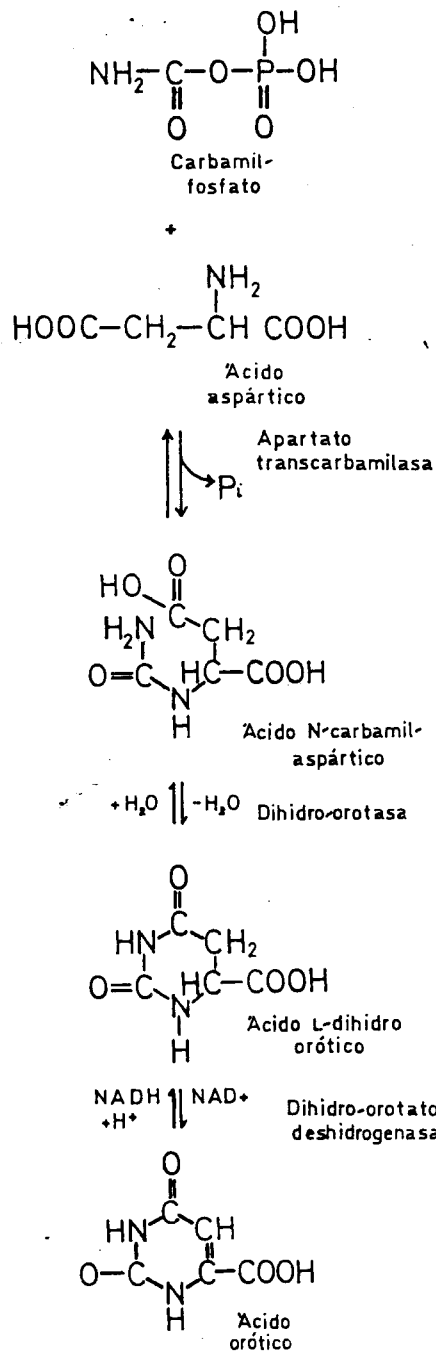
RADA y DRAG\*U\*N ( 107 ), confirman indirectamente el papel de dicha sustancia en la síntesis de ácidos nucleicos. Efectivamente, en presencia de ácido orótico, una droga antiviral = (6-azauridina) era incapaz de impedir la replicación del virus NEWCASTLE. Para KEPLER y cols ( 66 ), el ácido orótico es un claro precursor de los nucleótidos uracilicos. WINDMUELLER = ( 149 ) consigue con él un notable aumento de los nucleótidos hepáticos; aumento que se efectúa a expensas de los nucleótidos de la uridina (casi un 400 % más), en detrimento de los de la adenina (casi un 50 % menos).

El papel que juega el ácido orótico en la neoformación de los ácidos nucleicos, es el mecanismo que explica su efecto favorable no sólo en la terapéutica de ciertas hepatopatías, sino en las restantes situaciones clínicas que puede ser utilizado.

Dicho proceso, para LEHNINGER ( 80 ), se desarrolla en dos etapas claramente diferenciadas:

- En una primera fase -Figura 3 - ausente cuando se administra exógenamente el ácido orótico, ocurre la formación del mismo a partir del carbamil-fosfato y el ácido aspártico.
- Más tarde -Figura 4 - tiene lugar la definitiva formación del nucleótido hasta llegar a dar ácido uridilico.

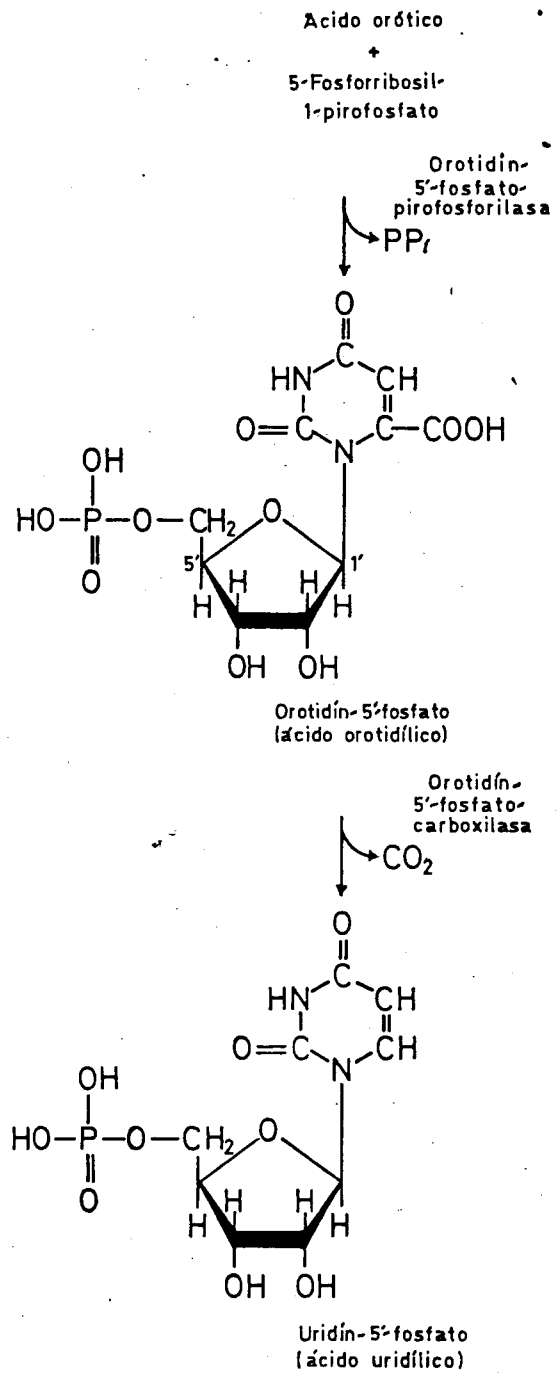
GROZDANOVIC y HRADEC ( 55 ), demuestran como el ácido orótico estimula la formación de RNA y que su naturaleza va a



Recambio intermedio de los ácidos nucleicos.

### I. Biosíntesis del ácido orótico

Fig. 3



Recambio intermedio de los ácidos nucleicos.

II. Formación de mononucleótidos pirimidínicos.

Fig. 54

corresponder a la fracción 45 S del mismo.

Posiblemente en relación con su capacidad formativa de ácido nucleicos y nucleoproteínas, están las acciones que el ácido orótico ejerce sobre el crecimiento, sobre el Sistema nervioso, sobre la reparación de los tejidos lesionados, sobre los síndromas con elevación del ácido úrico.

En la referente a su efecto anabolizante BAL<sup>4</sup>MAGIJA y cols ( 9 ), demuestran que la administración crónica de orotato potásico a ratas, acelera significativamente el crecimiento y maduración funcional de los animales.

A nivel del S.N.C los efectos del ácido orótico, ó de sus derivados, son evidentemente tanto a nivel físico-químico como funcionalmente. Así, KLUBA y cols ( 70 ), estudiando la amplitud de los potenciales bioeléctricos del núcleo caudado del conejo tras estimulación eléctrica, comunican que el ácido orótico es capaz de aumentarlos, desde los 15 hasta los 360 minutos después de su administración. Por otro lado, SZIRMAI y KLOSÁ ( 135 ), comprueban el evidente incremento en la capacidad de aprendizaje de las ratas a las que se ha administrado orotato de tiamina disulfúrica. También obtienen mejoría en el parámetro denominado "memoria a corto plazo". En el mismo orden de cosas, EZER y SZPORNÝ ( 38 ) confirman que el ácido orótico es útil para potenciar la capacidad de ratas "poco despiertas" en la resolución de un problema standardizado.

DUONIKOVA y RYVNIÁK ( 29 ) han trabajado sobre el efecto del orotato potásico sobre heridas experimentales cutáneas en ratas. Pudieron constatar una mayor rapidez en la maduración

de los fibroblastos, una biosíntesis elevada de los ácidos nucleicos (del RNA concretamente) y un acortamiento del tiempo que tardan en curar esas heridas. Los mismos autores ( 30 ) - siguiendo la metódica anterior, y utilizando micos en vez de ratas, confirman el incremento de ácidos nucleicos, así como mayor formación y maduración de las fibras de colágeno. NIKOLAIEVA y cols ( 98 ), obtienen una mejor y más rápida cicatrización de los infartos de miocardio, administrando ácido orótico a los animales de la experiencia.

La acción del ácido orótico y sus derivados sobre el metabolismo lipídico es conocida desde hace tiempo y confirmada por distintos investigadores. Acción que se traduce en una esteatosis hepática, por acúmulo de lípidos en dicha viscera. Así lo comunican, entre otros, BARTSCH y GERBER ( 10 ), al utilizar la referida droga en el tratamiento de ratas hepatectomizadas parcialmente; BIERI y EVARTS ( 14 ), cuando intenta provocar una situación de hipolipemia en ratas; KEPLER y cols ( 66 ), al cuantificar los depósitos de nucleótidos pirimidínicos en las ratas. Existe, sin embargo, una opinión contraria a todas las anteriores. Nos referimos al trabajo de FURUNO y cols ( 43 ), quienes aseguran que el ácido orótico no sólo origina esteatosis hepática, sino que mejora la producida por la administración crónica de etanol a micos.

El sustrato bioquímico de este acúmulo de lípidos ha sido muy bien perfilado por WINDMUELLER ( 149 ). Dicho autor confirma la esteatosis al adicionar ácido orótico a la dieta de las ratas y la adjudica a una inhibición en la biosíntesis de las lipoproteínas plasmáticas por el hígado, que deriva entonces



su actividad fisiológica hacia la biosíntesis de ácido graso y colesterol, que son los que finalmente se depositan en la misma viscera en forma de triglicéridos. El mismo autor mantiene que la adición de sulfato de adenina a la dieta, evita la aparición de la esteatosis aunque no encuentra explicación válida para ello. Sin embargo, para ROHEIM y cols (113) la clave está en la producción, por parte del ácido orótico, de una deficiente ó nula conjugación de la fracción lipídica y proteica de las lipoproteínas.

Los efectos sobre el metabolismo glucídico son dispares. Mientras que para FEKETE y cols (41) el ácido orótico provoca un significativo aumento del glucógeno hepático en distintas especies animales; para WINDMUELLER (149) no se modifican los niveles plasmáticos de glucosa.

La utilización del ácido orótico en síndromas hiperuricémicos y gota ha sido, junto con las hepatopatías, el campo de empleo más investigado en medicina humana. Su acción en estos cuadros es como agente uricosédrico especialmente cuando los uricosédricos clásicos están contraindicados por algún motivo (v.g., insuficiencia renal).

HAVINA y cols (108), han llegado a obtener un 80 % de resultados favorables. DELBARRE y AUSCHER (26) comunican respuestas positivas en la disminución de las cifras de uricemia, en caso de que se encuentren previamente elevadas. KRAKOFF (72), por el contrario, aún reconociendo su perfecta tolerancia, le adjudica poco valor como hipouricemiante.

Sin embargo, a pesar de lo antedicho, es en Patología digestiva donde con mayor profusión se han utilizado los orota-

tos,

MEEROF ( 87 ) y CAROLI ( 23 ) aportan la inferencia de «  
 excelentes resultados en hepatopatías parenquimatosas difusas,  
 PERREAU y VERGER ( 101 ) han encontrado una evidente eficacia,  
 con mejoría clínicas y analíticas, del orotato de Aica en hepa-  
 titis agudas, esteatosis hepática y en la llamada por algunos  
 autores "pequeña insuficiencia hepática". Por el contrario, «  
 no observaron efectos beneficiosos alguno en cirróticos des-  
 compensados. Por su parte, ROBITAILLE y cols ( 114 ) han usado  
 con éxito el mismo compuesto en hepatitis agudas y crónicas, «  
 así como en precirrosis alcohólicas. BAUCHANT y cols ( 11 ) «  
 emplean el referido producto, con éxito, en hepatitis virales  
 agudas; obtienen resultados medianos en la cirrosis y en hepa-  
 titis colostáticas fracasa totalmente esta terapéutica. No «  
 todo son éxitos pues GUTILLO y cols ( 25 ), demostraron la «  
 ineficacia del ácido orótico en el tratamiento de la hiperbi-  
 lirrubinemia del recién nacido. En efecto, en un estudio compa-  
 rativo, el ácido barbitúrico demostró ser «¿por inducción en-  
 zimática?» más efectivo para disminuir las tasas séricas de «  
 bilirrubina. Ello es una prueba indirecta de que la acción te-  
 rapéutica del ácido orótico se ejerce sobre el hepatocito le-  
 sionado, pero que resulta ineficaz frente a problemas en que  
 el hígado conserva su integridad funcional.

Consecuencia de lo expuesto hasta ahora es la pregunta  
 que sigue: ¿cómo ejerce su efecto, el ácido orótico, sobre  
 el hepatocito?; en otras palabras, ¿cuál es su mecanismo de  
 acción?. ROBITAILLE y cols ( 114 ) piensa que la biosíntesis de  
 la nucleoproteínas que induce, le permite aumentar la dotación

enzimática del hepatocito. Apoyan esa teoría los trabajos de SZELENVI y cols ( 134 ) y los de BRUNNER y cols ( 21 ). Estos últimos valoraron las modificaciones que ocurrían tanto a nivel de enzimas microsomales como mitocondriales. En concreto, se elevaron las tasas de GOT (20 %), succínico-dehidrogenasa (50 %) y NADH-citocromo-C-reductasa (40 %), por el contrario, se redujeron las tasas de citocromo P-450 (25 %) y glucuronil transferasa (40 %).

Uno de los parámetros que más nos pueden servir como muestra de ésta actividad enzimática aumentada, es la eficacia que tiene el ácido orótico para neutralizar tóxicos hepáticos. Dicha capacidad fué probada por PICKERING y cols ( 103 ) en hepatitis inducidas por D-galactosamina, en las que observaron -cuantitativamente y cualitativamente- una respuesta favorable. Utilizando el mismo tóxico, KEPLER y cols ( 66 ) logran prevenir la aparición de hepatopatías por la administración de tris-orotato y de orotato de colina. RYMAR\*SHCHERBINA ( 118 ), utilizando el fluoruro sódico como tóxico hepático en ratas con exéresis parcial previa de dicha viscera consiguen, con la adición de ácido orótico, neutralizar la acción de aquel y posibilitar la regeneración del hígado.

Así, pues, es necesario perfilar las indicaciones terapéuticas del ácido orótico en Hepatología. Resulta evidente que la aplicación en hepatopatías parenquimatosas difusas, sin más precisión, adolece de vaguedad. Sin duda que va a proporcionar el sustrato plástico y energético que necesita el hepatocito lesionado para recomponer su estructura. Será entonces útil en aquellos procesos en que se conserve la arquitectura hepática.

y, consecuentemente, la "hepatona" mantendrá una buena nutrición a expensas de los vasos próximos. El aporte exógeno de ácido orótico va a poder ser utilizado en conseguir una mejor y más rápida "restitutio ad integrum". Las hepatopatías parenquimatosas difusas agudas cumplen las condiciones anteriores y en ellas será correcto el empleo de esta sustancia, con la seguridad de obtener una respuesta favorable.

No ocurre lo mismo en caso de que tratamos una situación patológica similar, pero crónica, en la que están rotas (v. g. cirrosis) -morfológica, topográfica y funcionalmente- las configuraciones de cada "hepatona" y sus relaciones con las demás. En esta situación, la administración de una sustancia que favorece la biosíntesis de ácidos nucleicos puede descompensar -malignizando- una lesión hasta entonces degenerativa. Podrían ocurrir, entonces, que el uso indiscriminado de un "protector hepático" posibilitara el temido paso de cirrosis a carcinoma hepático.

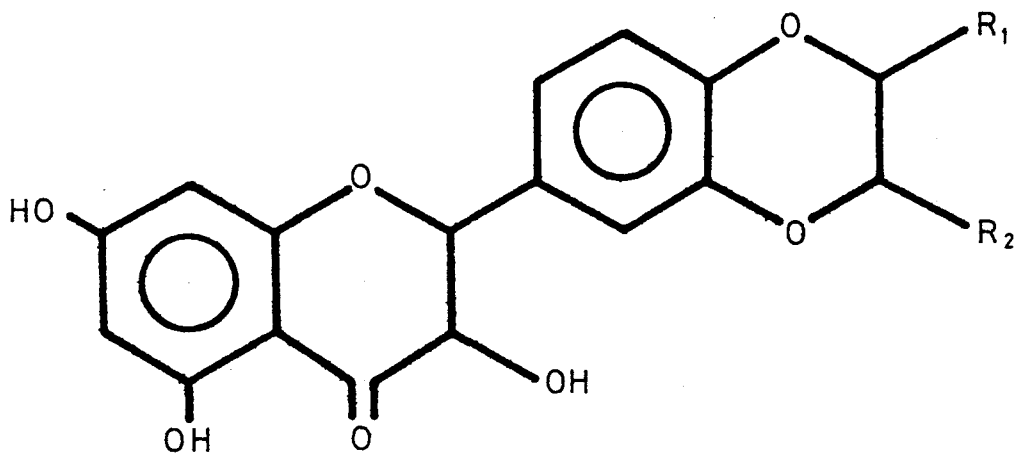
#### IV. 5/ Farmacología de la Silimarina

La Silimarina es una sustancia, aislada por WAGNER y cols (144, 145), extraída de las semillas de una antigua planta medicinal, denominada *Cardus Marianus* (L.) Gaertn. Se trata de un vegetal, parecido a una alcachofa pero más espinoso, utilizado por la sabiduría popular en afecciones hepatobiliares (\*).

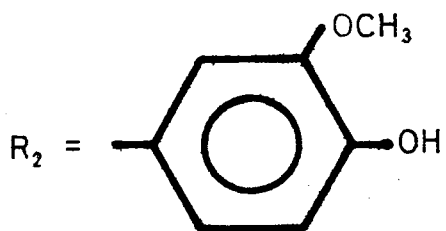
Químicamente es un flavanol, de fórmula general  $C_{25}H_{22}O_{10}$ , que estructuralmente corresponde al coniferyl-polihidroxi-2-fenil-crotonolignano. Su toxicidad es prácticamente nula, tanto en administración aguda, subaguda ó crónica. Tampoco presenta efectos teratogénos (HAHN y cols (56)). En realidad se trata de un grupo de sustancias, cuyo principal compuesto es la Silybina (aunque también se han aislado la Silydianina y la Silycristina), cuya conformación reproducimos en la Figura 5. Sobre ella tienen estudios muy precisos HALBACH y cols (57, 58 y 59). Desarrollando su fórmula se corresponde con el 3, 5, 7, trihidroxi-3-metoxi-flavenon-3-ol con un resto de  $C_9H_9O_3$  situado en  $C_4$  ó  $C_7$

---

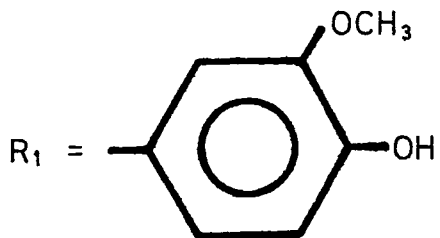
(\*) Recordemos que algunos pueblos primitivos sudamericanos, en concreto algunas tribus indias al sur de Argentina, utilizan la cocción de "cardo borriquero" en caso de enfermedad grave (¿neoplastas?).



$R_1 = \text{CH}_2\text{OH}$



ó



$R_2 = \text{CH}_2\text{OH}$

## SILYBINA

(Según PELTER y HÄNSEL)

Fig. 5

Su utilización inicial aportó sugerentes y favorables resultados. SANCHEZ DE LA CUESTA y cols (120) consiguen una influencia altamente favorable sobre la sintomatología subjetiva, y sobre los signos objetivos = clínicos (ictericia, ascitis y hepatomegalia). Sin = embargo obtuvieron resultados más brillantes aún sobre los siguientes parámetros analíticos: tiempo de = protrombina, fosfatasa alcalina, test de labilidad sérica, bilirrubinemia directa e indirecta y transaminasas (GOT y GPT).

POSER (106), en colangitis y hepatitis crónicas, obtuvo con ella excelentes resultados clínicos, analíticos e histológicos.

SCHILDER (123) comunicó mejoras notables, clínica y = humoralmente, en hepatitis agudas. Además, en hepatitis crónicas y cirrosis hepáticas, obtiene una intensa reducción en la actividad inflamatoria del proceso.

En cirugía digestiva SCHRIEFERS y DIETZ (126) encuentran siempre que realizan una anastomosis porto-cava = a un cirrótico, un descenso transitorio del funcionamiento hepático. Obtienen excelentes resultados cuando tratan de detener con Silimarina esta fugaz insuficiencia. Las constantes que mejor logran estabilizar = son la bilirrubina, cociente albúminoglobulina, índices de protombina y GPT.

VOGEL (141) fué el primero que describió la acción beneficiosa de la Silimarina en lesiones tóxicas del hígado y el que primero sostuvo que ello se debía a la acción estabilizadora de las biomembranas. Se basaba en que dicha droga era capaz de antagonizar a un tóxico, la faloidina, cuyo mecanismo lesivo era desorganizar dichas formaciones celulares. En estudios posteriores, el mismo autor, junto con TEMMER (142), ha demostrado que la Silimarina es capaz también de ejercer una acción curativa ante las lesiones del hígado que provoca la referida faloidina. Naturalmente, esta última acción está en relación inversa con el grado de daño hepático y con su estado evolutivo. Por otro lado, HANN y cols (56, -) han comprobado el efecto antihepatotóxico de dicho fármaco en varios modelos experimentales: lesión celular aguda por Tetracloruro de carbono, cirrosis por tioacetamida, efecto hepático inicial por algaamanitina y lesión hepática por alcohol etílico y faloidina, indistintamente.

Sin embargo la mayor evidencia del efecto-protector-de-membrana que ejerce la Silimarina ha sido aportada por SEEGER y RIEGER (127), en una demostración directa sobre hematíes humanos y bovinos. Ellos han mostrado, en situaciones ambientales su resistencia osmótica disminuyendo su tendencia lítica cuando la solución en que se contienen estos globulos se adiciona con Silimarina. Más tarde, también SEEGER (128) llama la atención



49

sobre la utilidad que la anterior observación puede tener en los Bancos de Sangre y Centros de Hematología. En efecto, una nueva aplicación terapéutica de la Silimarina podría ser la conservación de la sangre, que se almacena habitualmente en unas condiciones muy similares a las de la experiencia. El mismo autor determina las circunstancias en que se hace más ostensible el efecto antihemolítico:

- concentración de Silimarina de  $10^{-8}$  a  $10^{-6}$  M.
- elevada concentración de ClNa.

En esta misma línea de trabajo, WEIL y FRIMMER (ver 106) comprobaron en corazones de rata aislados, cómo la Silimarina adicionada al líquido de perfusión bloquea la pérdida de K de las fibras miocárdicas inducida por la feloidina.

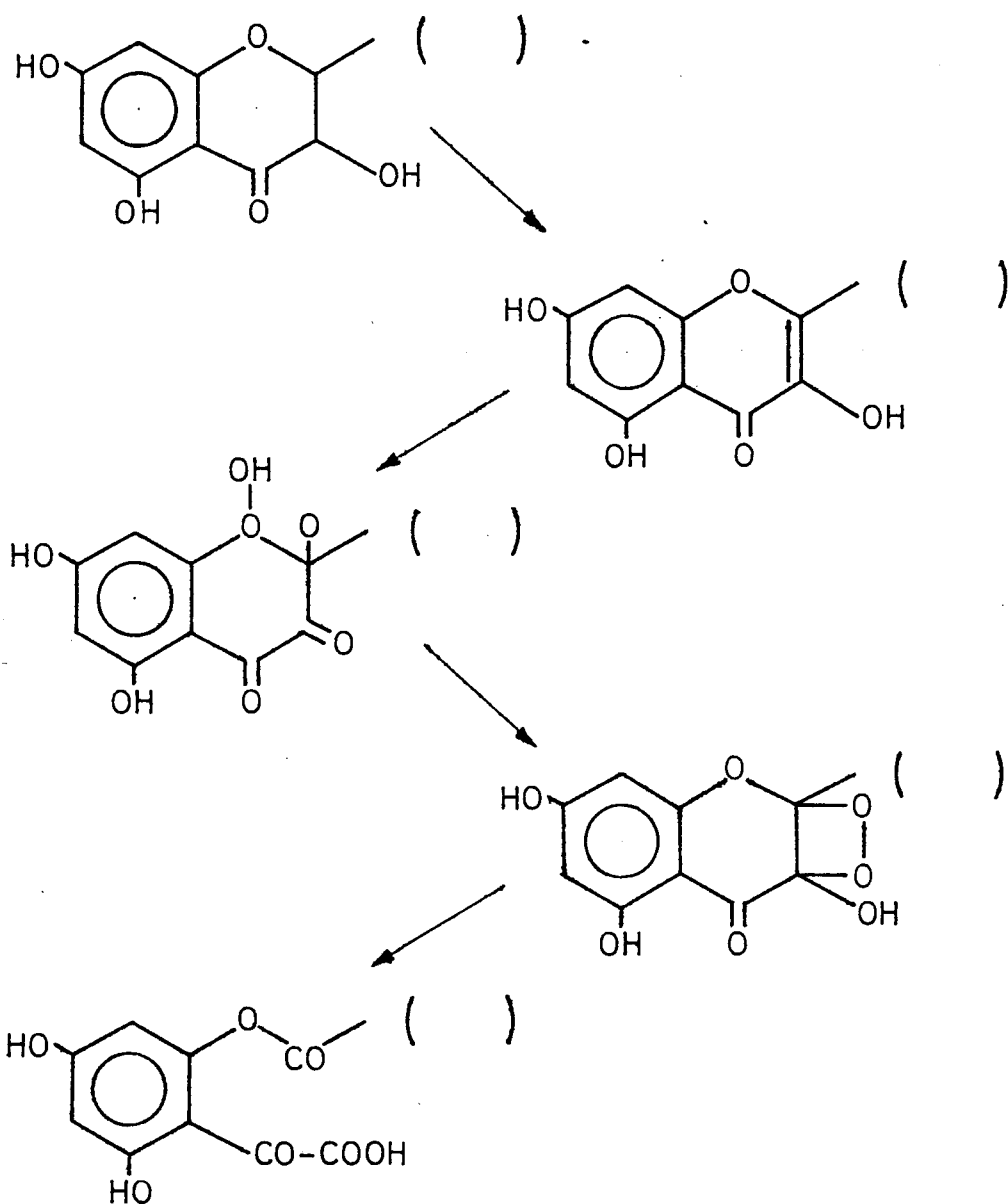
ALEMANY y cols (3), en ratas intoxicadas por  $Cl_4 C$ , comprueban que la Silimarina mantiene estable sus niveles de ácido pirúvico y láctico en sangre y en tejido hepático, al mismo tiempo que reduce la esperada aleación de la concentración hepática de ATP. Deducen que podrían ejercer sus efectos en los enzimas microsomales responsables de la biosíntesis de glucosa a partir del ác. láctico.

Existe una gran unanimidad, por parte de los investigadores, en admitir que la Silimarina ejerce su efecto protector sobre el hígado estabilizando el hepatocito y sus organelas intracelulares, preferentemente los lisosomas. Ese papel estabilizador se localizaría a nivel

de las biomembranas, como consecuencia de "tamponar" los peróxidos que aparecen cuando las células se encuentran en condiciones metabólicas deficientes.

La Figura 6, muestra el probable desarrollo que sigue la Silimarina en la ejecución de su papel antitóxico, cuyo sustrato consiste en una oxidación sucesiva (141).

Numerosos trabajos de Farmacología experimental abonan el criterio anterior. Así, RUMMEL (117), con su diseño de membrana biológica demuestra que la Silimarina modifica en el laboratorio la permeabilidad de esa membrana, con lo que se dificulta la difusión de sustancias tóxicas a su través. MONFORT ALBELDA y cols (94) han comprobado como la Silimarina no impide el descenso de la concentración hepática de la DAO, inducido por el  $Cl_4 C$ . Como se sabe, dicha enzima (Diamino-oxidasa) se encuentra presente en muchos tejidos orgánicos y es un conjunto fermentativo responsable de ciertas biotransformaciones de la Histamina. Todo lo cual permite suponer, de manera indirecta, que los efectos beneficiosos de la droga se realizan sobre molécula biológicas contenidas en una formación cerrada y separados del resto de la célula por una membrana; tal es el caso de los microsomas. También MONFORT y cols (93) obtienen con Silimarina un llamativo efecto hepatotrófico (regeneración de la viscera hepática), en ratas a las que previamente se había realizado una exéresis parcial del hígado. En su opinión, además del efecto protector de



Cadena reaccional oxidativa del componente flavanol de la  
SILYBINA

Fig. 6

membranas, esta sustancia produce un incremento en la biosíntesis de los ácidos nucleicos del hepatocito - por estimular la concentración y actividad de los enzimas microsomales responsables de tal restauración - plástica. Los mismos autores (92a), también sobre ratas, han evidenciado que la Silimarina impide la prolongación de HBST ( \* ) e, igualmente, impide las modificaciones del proteinograma que produce la intoxicación etílica subaguda ( 92 ).

AZNAR y cols ( 8 ) demuestra de manera muy útil cómo la Silimarina posee una capacidad activadora del hepatocito, signo inequívoco de su normal funcionamiento. Efectivamente, estos autores estudian en ratas intoxicadas con  $Cl_4 C$  el comportamiento de la pentagastrina a través de su capacidad estimulante de la secreción-clorhidropéptica del estómago (secreción que se puede cuantificar con la técnica de LAI-CASULA).

Comprueban como el tratamiento con Silimarina reduce la capacidad estímulo-secretante de la pentagastrina, al ser ésta última mejor metabolizada en el hepatocito "protegido". Los mismos investigadores ( 7 ), por otra parte, demuestra como ratas sometidas a un prolongado ejercicio físico, elevan su contenido hepático en glucógeno cuando son previamente tratadas con Silimarina.

---

( \* ) HBST: Hexobarbital sleeping time. Por el interés del tema, remitimos al lector a los trabajos de GEORGEES ( 47 ) y MAINERT ( 86 ).

VAZQUEZ DE PRADA (139) estudia la acción estabilizadora de la Silimarina sobre las membranas de las mitocondrias hepatocitarias. Previamente las ha lesionado con etionina, sustancia análoga a la metionina. Consigue así disminuir la actividad de dos importantes enzimas del ciclo de Krebs (fumarasa y malato-dehidrogenasa) y de un enzima de la cadena respiratoria (succinato-citocromo-C-reductasa). Cuando la administración de etionina se acompaña de la de Silimarina, no se modifican los valores enzimáticos anteriores en relación a los controles. En un trabajo posterior, el mismo autor (140) infiere que el efecto protector no sólo se produce sobre las membranas intracelulares, sino que también ejerce un efecto estabilizador -evitando su disrupción- sobre la membrana celular del hepatocito. La esteatosis hepática que provoca la intoxicación aguda de alcohol, con un notable aumento del contenido en lípidos totales y triglicéridos, puede ser reducida considerablemente por la administración conjunta de alcohol y Silimarina. También han utilizado la ingestión de etanol, aunque con una pauta de intoxicación subaguda, PLATT y SCHNORR (104, 105, -), observando alteraciones hepáticas de los tipos:

- bioquímicas: hay un descenso de la concentración proteica y de la actividad enzimática de los lisosomas.
- morfológicas: infiltración grasa (esteatosis) con microscopio óptico y mitocondrias patológicas cuando se utiliza la electrónica. Sin embargo, si los animales

de la experiencia eran tratados con Silimarina no aparecían tales modificaciones.

Finalmente recordemos el trabajo de OPORTO y cols (99), inmediato antecesor al maestro, que confirma la utilidad de la Silimarina para reducir la cuantía y naturaleza de las alteraciones hepáticas inducidas en ratas por el "butter - yellow", asociado a dieta de arroz.

V. MATERIAL Y METODO.

Todos los estudios se han realizado sobre ratas jóvenes de raza Sprague-Dawley, de ambos sexos, mantenidas en condiciones tipificadas de estabulación y condiciones de vida, variando, sólo, la dieta prevista por la índole de la investigación. Todos los animales fueron homogéneos en lo que respecta a sus procedencia y estirpe.

En total se han usado 240 ratas (120 machos y 120 hembras) y el diseño experimental seguido en ellas, corresponde a las líneas que detallamos a continuación:

a) El peso de los animales al empezar la experiencia, osciló entre 190 y 240 gramos (machos) o 130 y 200 gramos (hembras) y la distribución a cada grupo de estudio se hizo de forma aleatoria de conformidad con un proceso de randomización extraídos de tablas de números casuales. Se dispuso de 12 ratas en cada combinación de sexos, grupos de estudio y duración de dieta.

b) Se establecieron 5 grandes grupos de estudio, según la dieta impuesta:

b.1) Un primer grupo de ratas (mitad machos y mitad hembras) recibió una dieta exclusiva de arroz, adicionando ácido orótico a la misma, en dosis orales diarias de 1,2 g / kg, sacrificándose un lote de animales a los 60 días de



dieta y otro a los 90 días.

- b.2) Un segundo grupo fué alimentado con =  
dieta de arroz, adicionando 100 mg/kg,  
diarios, de silimarina. La mitad, como  
en el caso anterior, se sacrificó a =  
los 60 días y la otra mitad a los 90.
- b.3) Un tercer grupo sirvió para comprobar,  
exclusivamente, el efecto tóxico -a =  
los 60 y a los 90 días- del derivado =  
azo-bencénico, por lo que fué alimentado  
do, sólo, con arroz y "butter yellow".
- b.4) El cuarto grupo recibió la dieta de =  
arroz con "butter yellow" y ácido oró-  
tico, en las mismas condiciones queel  
grupo primero.
- b.5) Finalmente, el quinto grupo, recibió =  
arroz, "butter yellow" y silimarina, =  
ésta, igualmente, en dosis de 100 mg/k  
por vía oral. Se mantuvo la pauta de =  
sacrificio a los 60 y 90 días.

En todos los casos se dió un suplemento alimen-  
ticio de verduras frescas (aproximadamente 1 g/-  
rata/ día de zanahorias).

- c) El ácido orótico se ofreció mezclado con el pienso  
dietético y la silimarina en bloques de gala-

tina solidificada. Tanto las dietas, como los fármacos se mantuvieron durante todo el periodo experimental, sin ningún día de descanso intermedio, garantizándose la ingesta de fármacos por control visual.

d) Para preparar las dietas correspondientes se empleó arroz basto moreno, molido groseramente, en el cual se mezcló el p-dimetil-azobenceno ("butter yellow"), disuelto en aceite de oliva en concentración al 3%. Veinte ml de esta solución se mezclaron con 1000 gr. de arroz y la pasta resultante se ofreció "ad libitum", a los animales objeto de la experiencia.

e) Se efectuó un control del paso corporal, de forma periodica, consignándose, sobre todo, el inicial y el final (a los 60 y a los 90 días). Al finalizar estos periodos de tiempo, se procedió a anestesiar las ratas con uretano i.p. (2 g/kg) haciendose, seguidamente, una laparotomía abdominal amplia, que permitiese la extracción directa de sangre, desde la vena cava inferior y, concluida ésta, la toma de piezas hepáticas para el estudio histopatológico y la determinación de diversas fracciones lipídicas en el órgano.

f) La sangre obtenida sirvió para determinar:

- transaminasas (GP y GO)
- proteinograma electroforético

en tanto que, a nivel hepático, se determinaron las tasas de:

- lípidos totales
- triglicéridos
- fosfolípidos

homogeneizando el hígado, a partes iguales, con agua destilada, extrayendo con cloroformo-metanol 2:1 y desecando antes de valorar analíticamente.

- g) Para la valoración colorimétrica de las transaminasas se utilizaron los kit, preparados, de Boehringer Mannheim, expresándose los resultados en mU/ml (1 mU = 2U Wroblewski).
- h) El proteinograma sérico electroforético se efectuó sobre tiras de acetato de celulosa con puente de 8,5 cm y tampón veronal pH 9,6 a 200V, durante 75 minutos. Las tiras se tiñeron con rojo Ponceau, en ácido tricloroacético. Las bandas se valoraron recortando las distintas fracciones y eluyendo las proteínas teñidas, para la valoración colorimétrica, a 545 nm.
- i) Para determinar los lípidos totales se siguió el método de ZÖLLNER (151), tratando el suero =

con ácido sulfurico en frio y haciendo interaccionar los lípidos con el reactivo ácido-fosfórico-vainillina, que da origen a una coloración rosa, valorable a 530 nm.

- j) Los triglicéridos se han determinado, siguiendo los métodos de SCHMIDT (124) y EGGSTEIN (33);= primero se valoró, directamente, la glicerina = libre. Tras fosforilizar, mediante gliceroquina sa y ATP (resultando ADP y glicerol-1-fosfato), se acopla esta reacción con piruvatoquinasa y = fosfoenolpiruvato, obteniéndose, de nuevo, ATP= y piruvato, el cual reacciona con  $\text{NADH}_2$ , en presencia de LDH, produciéndose lactato y NAD.

Se mide el descenso de la extinción, ocasionado por la desaparición del  $\text{NADH}_2$ , a 366 nm. La glicerina total (libre esterificada) se valora = por el mismo proceso, tras saponificar los ésteres de glicerina con KOH alcohólico, en caliente, y posterior adición minación. El cálculo de triglicéridos se hace multiplicando la glicerina esterificada por 8,85 (constante, según EGGSTEIN (33) ).

- k) Los fosfolípidos se precipitan con ácido tricloroacético y el fósforo lipídico se determina = por oxidación con agua oxigenada y ácido perclórico a 180 °C y posterior reacción con el reac-

tivo de ZILVERSMIT (150), resultando una coloración amarilla, que se valora a 405 nm.

Todas las determinaciones de los apartados i), = j) y k) se efectuaron en colorímetro VITATRON = UFD.

l) Las piezas obtenidas del hígado, se fijaron en = formol, efectuándose, después, preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina y PAS.

m) La valoración estadística de los resultados se = llevó a cabo en ordenador IBM 360/25, siguiendo= el programa ANOVA de las SSP de IBM, para análisis de varianza.

De conformidad con este tratamiento, se obtuvieron los parámetros estadísticos convencionales, = tanto de posición (promedio aritmético), como de dispersión (varianza, desviación típica y error= típico), completándose el estudio con un análisis de la varianza, descompuesta en las diversas fuentes de variación, que contribuyen a la varia bilidad:

- los sexos
- los grupos de estudio
- los tiempos de dieta
- las tres interacciones dobles
- la interacción triple (grupo x

sexos x tiempos)

- el error residual

Seguidamente, se obtuvo la razón de varianza (F) de cada uno de estos componentes, con respecto al error residual (varianza biológica), contrastándose su probabilidad de error con las F tabuladas a diversos grados de p. Se adoptó el criterio de considerar como estadísticamente significativo una  $p < 0,05$ .

Una vez calculadas las diversas razones de varianza, se procedió a una comparación de medias, mediante test de TUKEY o de DUNNET.

VI. RESULTADO.

## 1. Evolución del peso corporal

Para facilitar los cálculos comparativos se han empleado, en lugar de los pesos totales de principio y final de experiencias, las diferencias individuales "final - inicial". Se ha hecho así con objeto de que estas diferencias reflejen, ópticamente, el sentido de la evolución ponderal, puesto que el adelgazamiento se traduce en valores negativos y el engorde en valores positivos, pudiéndose, incluso, observar el mayor o menor desarrollo ponderal del grupo, por la dimensión absoluta de la diferencia "final - inicial".

Las variaciones obtenidas son reflejadas en el cuadro I consignándose los promedios y los errores típicos de éstos ( $\bar{x} - s_m$ ). Puede comprobarse que la dieta de arroz, con "butter yellow" conduce a un retraso, muy significativo, del desarrollo ponderal de los animales tratados, reflejándose, al pie del cuadro I, los distintos valores de las razones de varianza (F) para cada componente de variabilidad. Se observa que, en todos ellos, aparecen razones de varianza elevados, revelando que:

- a) las diferencias entre los grupos son altamente significativas
- b) las diferencias entre los sexos son altamente significativas



## CUADRO I

(Su representación gráfica en pag. siguiente)

PESO -gramos- (final - inicial)

en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

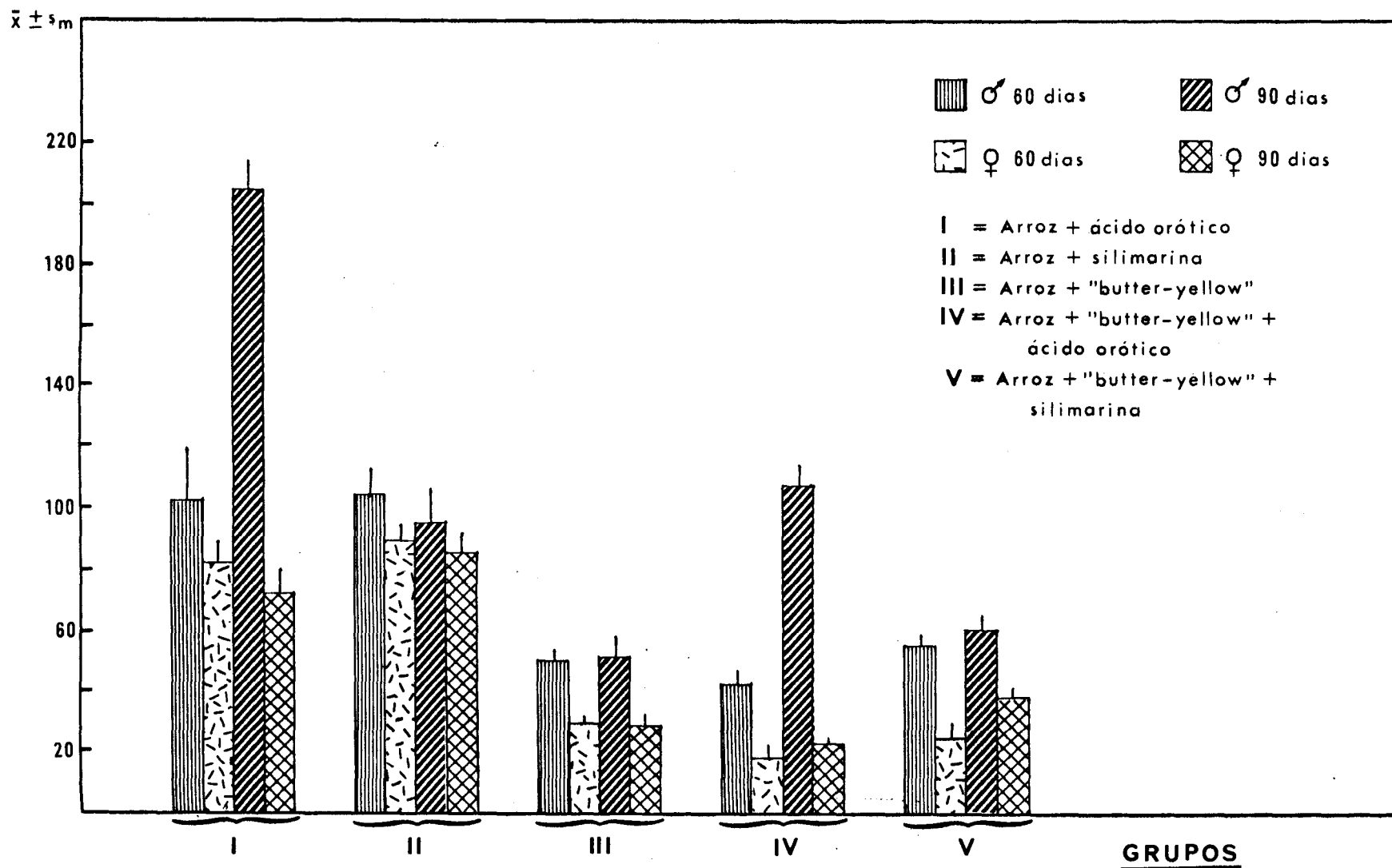
 $\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

Grupos	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	112'08 + 7'27 -	82'92 + 5'79 -	204'17 + 9'77 -	72'08 + 7'75 -
Arroz + Sili-marina	103'75 + 9'60 -	89'17 + 5'32 -	95'42 + 9'24 -	85'00 + 7'10 -
Arroz + "Butter-Yellow"	50'00 + 4'17 -	29'17 + 1'83 -	50'83 + 7'56 -	27'92 + 3'82 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Acido orótico	42'50 + 4'29 -	16'67 + 5'09 -	107'50 + 5'13 -	21'67 + 2'91 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	54'58 + 4'50 -	24'17 + 5'57 -	59'58 + 5'35 -	37'50 + 3'72 -

Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F = 129'767;	p < 0'001
Sexos	F = 203'592;	p < 0'001
Tiempos	F = 32'163;	p < 0'001
Grupos x Sexos	F = 20'791;	p < 0'001
Grupos x Tiempos	F = 11'605;	p < 0'001
Sexos x Tiempos	F = 30'475;	p < 0'001
Grupos x Sexos x Tiempos	F = 15'777;	p < 0'001

**GRAFICA 1: INCREMENTO DE PESO-GRAMOS (final-inicial) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y "BUTTER-YELLOW" TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA. PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n = 12)**



- 67
- c) las diferencias entre los períodos de dieta son altamente significativas
  - d) las interacciones, tanto dobles, como triples, son altamente significativas

De todo esto puede inferirse que:

- a) la ingesta de "butter yellow", junto con la dieta, da lugar a un retraso en el desarrollo de las ratas y que dicho retraso no es significativamente antagonizado por la administración simultánea de ácido orótico o de silimarina
- b) el efecto tóxico del "butter yellow" en el bloqueo del desarrollo ponderal, resulta estadísticamente, más acusado, en las hembras
- c) la prolongación de la dieta, desde 60 a 90 días, tiene unos condicionantes inversos sobre el desarrollo ponderal, justificándose la diferencia altamente significativa, contrastada para "tiempos", en el superior peso de los animales a los 90 días, comparando con los 60.
- d) la interacción, altamente significativa, grupos x sexos indica que, en función del tipo de dieta tóxica, las hembras son más afectadas que los machos

63

en lo que se refiere a desarrollo corporal, en presencia del "butter yellow". Considerando individualmente los sexos, dentro de los grupos, se aprecia que en los machos, hay un efecto "protector" significativo del ácido orótico, que se opone a la acción limitadora de peso ejercida por el "butter yellow", efecto que, en las hembras, no sólo no aparece, sino que es de signo contrario con el ácido orótico y no varía con la silimarina.

- e) la interacción, también altamente significativa, grupos x tiempos llama la atención, sobre todo, hacia una mayor actividad tóxica, reductora del peso, del "butter yellow" administrado aisladamente, efecto capaz de ser compensado (diferencias significativas), al prolongarse la dieta, en los animales tratados con ácido orótico y con silimarina, en tanto en cuanto que a los 60 días, el efecto reductor del peso ejercido por el "butter yellow" se potencia por el ácido orótico y no se modifica por la silimarina. En general, en todos los grupos, hay un significativo incremento ponderal a los 90 días, comparando con los 60 días, con la excepción -como se ha dicho- de las ratas alimentadas con arroz "butter yellow".

f) el examen de la interacción "sexos por tiempos" conduce, al igual que en el caso de los demás componentes, a diferencias altamente significativas. En tal sentido se aprecia, que las hembras tienen un desarrollo del peso inferior, significativamente, al de los machos y que, además, lo estabilizan, a partir de los 60 días (no hay diferencias significativas entre los promedios de los 60 y de los 90 días, sin deslindar grupos), cosa que no sucede con los machos que siguen engordando, al prolongar el periodo de observación

g) finalmente, la interacción triple (grupos x sexos x tiempos), altamente significativa, refleja la carencia de paralelismo de las respuestas por grupos, sexos o tiempos, carencia de paralelismo que se exterioriza al comparar, uno a uno, cada grupo: en tal sentido, se comprueban las siguientes diferencias, significativas:

- las hembras alcanzan cifras de peso más reducidas que los machos, a los 90 días de dieta no siendo significativas las variaciones, a los 60 días
- tanto los machos, como las hembras, a nivel de las observaciones de los 60 y los 90

días, ven frenado su desarrollo ponderal por el "butter yellow", de una forma altamente significativa, sin que la prolongación de la dieta modifique esta circunstancia

- la administración simultánea de ácido orótico da lugar a un estímulo del desarrollo del peso en los machos, a los 90 días, sin encontrarse otras diferencias estadísticamente significativas

- la administración simultánea de silimarina no cambia el efecto del "butter yellow" sobre el peso.

2. Lípidos hepáticos

Del examen del cuadro II, donde se reflejan promedios y errores típicos se desprende que:

a) hay una diferencia altamente significativa entre los grupos, que indica -sin tomar en consideración ni sexos, ni tiempos de dieta- que en los animales tratados con "butter yellow" se acumulan más lípidos que en los animales que no reciben el tóxico, no habiendo diferencias significativas entre éstos, en función del tratamiento hepatoprotector

b) hay diferencias en el comportamiento de los sexos,

(Su representación gráfica en pag. siguiente)

## LIPIDOS HEPATICOS (mg/g)

.....  
 en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
 tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

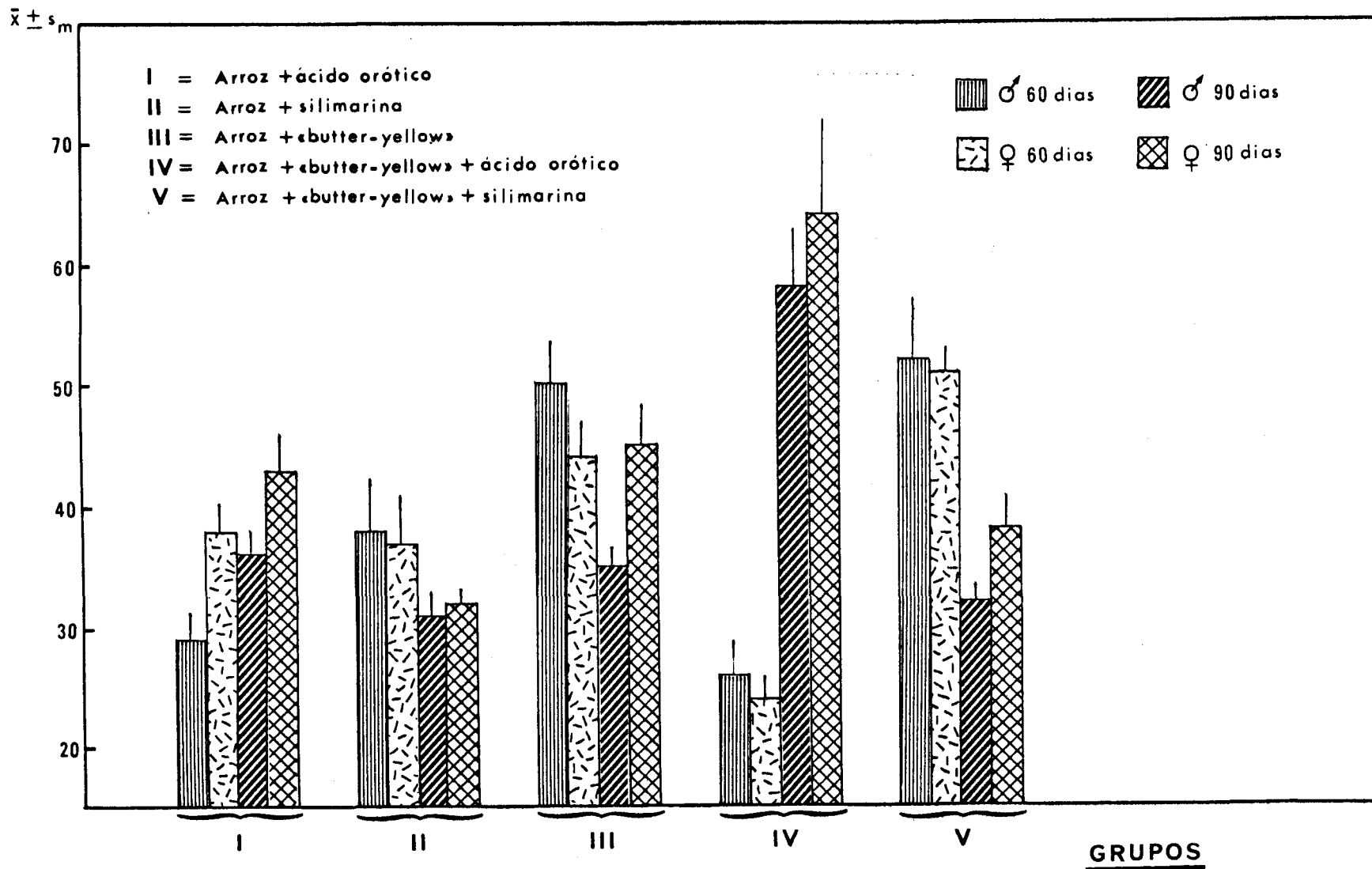
 $\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

<u>Grupos</u>	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	29'45 + 2'12 -	38'33 + 2'09 -	35'86 + 1'96 -	42'70 + 3'58 -
Arroz + Sili-marina	38'39 + 3'65 -	37'71 + 3'00 -	31'03 + 1'67 -	31'58 + 1'86 -
Arroz + "Butter-Yellow"	50'47 + 3'26 -	44'51 + 2'49 -	35'14 + 1'61 -	45'40 + 3'24 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Acido orótico	26'50 + 2'48 -	24'85 + 1'38 -	58'70 + 4'14 -	64'35 + 7'70 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	52'00 + 5'30 -	51'13 + 2'21 -	32'21 + 1'62 -	38'43 + 2'13 -

Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F =	7'559;	p < 0'001
Sexos	F =	4'099;	p < 0'05
Tiempos	F =	2'328;	p N.S.
Grupos x Sexos	F =	0'833;	p N.S.
Grupos x Tiempos	F =	39'566;	p < 0'001
Sexos x Tiempos	F =	4'255;	p < 0'05
Grupos x Sexos x Tiempos	F =	1'167;	p N.S.

**GRAFICA 2: LIPIDOS HEPATICOS (mg/g) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y «BUTTER-YELLOW» TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA. PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n = 12)**





de forma que las hembras tienden a acumular más lípi-  
dos que los machos; no obstante, las diferencias son  
tan escasas que esta conclusión debe emitirse con al-  
gunas reservas, aunque resulte estadísticamente sig-  
nificativa

- c) no hay diferencias significativas entre la acumula-  
ción de lípidos que se consigue después de 60 días =  
de dieta, y la lograda a los 90 días
- d) tampoco se nota una tendencia a que un determinado =  
sexo acumule más cantidad de lípidos, según la dieta  
impuesta (interacción grupos x sexos no significati-  
va)
- e) hay una tendencia, altamente significativa, a acumu-  
larse más lípidos en las ratas sometidas a dieta de-  
"butter yellow" adicionada de ácido orótico, cuando  
se prolonga el periodo de dieta, desde 60 a 90 días.  
Prácticamente, se duplican las tasas hepáticas de lí-  
pidos, tanto en los machos, como en las hembras y, =  
en cambio, se aprecia el fenómeno inverso en el gru-  
po de dieta tóxica, adicionada de silimerina, en los  
que el fármaco consigue reducir el nivel de lípidos=  
hepáticos en un 40%, aproximadamente. En ambos casos  
las diferencias temporales son altamente significati-  
vas

- f) como complemento del fenómeno anterior aparece el observado al analizar la interacción sexos x tiempos = ( $p < 0,05$ ), comprobándose que el acúmulo de lípidos es significativamente mayor en las hembras, tras 90 días de sobrecarga dietética, comparando con los machos
- g) finalmente, la interacción triple (grupos x sexos x tiempos) no se revela estadísticamente significativa sugiriendo la existencia de paralelismo en las respuestas por grupos, sexos y tiempos de dieta (igualmente, pero distinta ordenada en el origen); o sea, efectos más elevados en los grupos de dieta con "butter yellow" y, asimismo, en las hembras y en los 90 días de dieta.

### 3. Triglicéridos hepáticos

Al examinar el cuadro III, en el que figuran -como en los anteriores- los correspondientes parámetros estadísticos (promedios y errores típicos), se llega a las siguientes deducciones:

- a) diferencias altamente significativas entre los grupos, debido, sobre todo, al acúmulo experimentado en los animales sometidos a la dieta de "butter yellow" adicionada de ácido orótico, acúmulo que difiere, =

(Su representación gráfica en pg. 76 siguiente)

## TRIGLICERIDOS HEPATICOS (mg/g)

en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

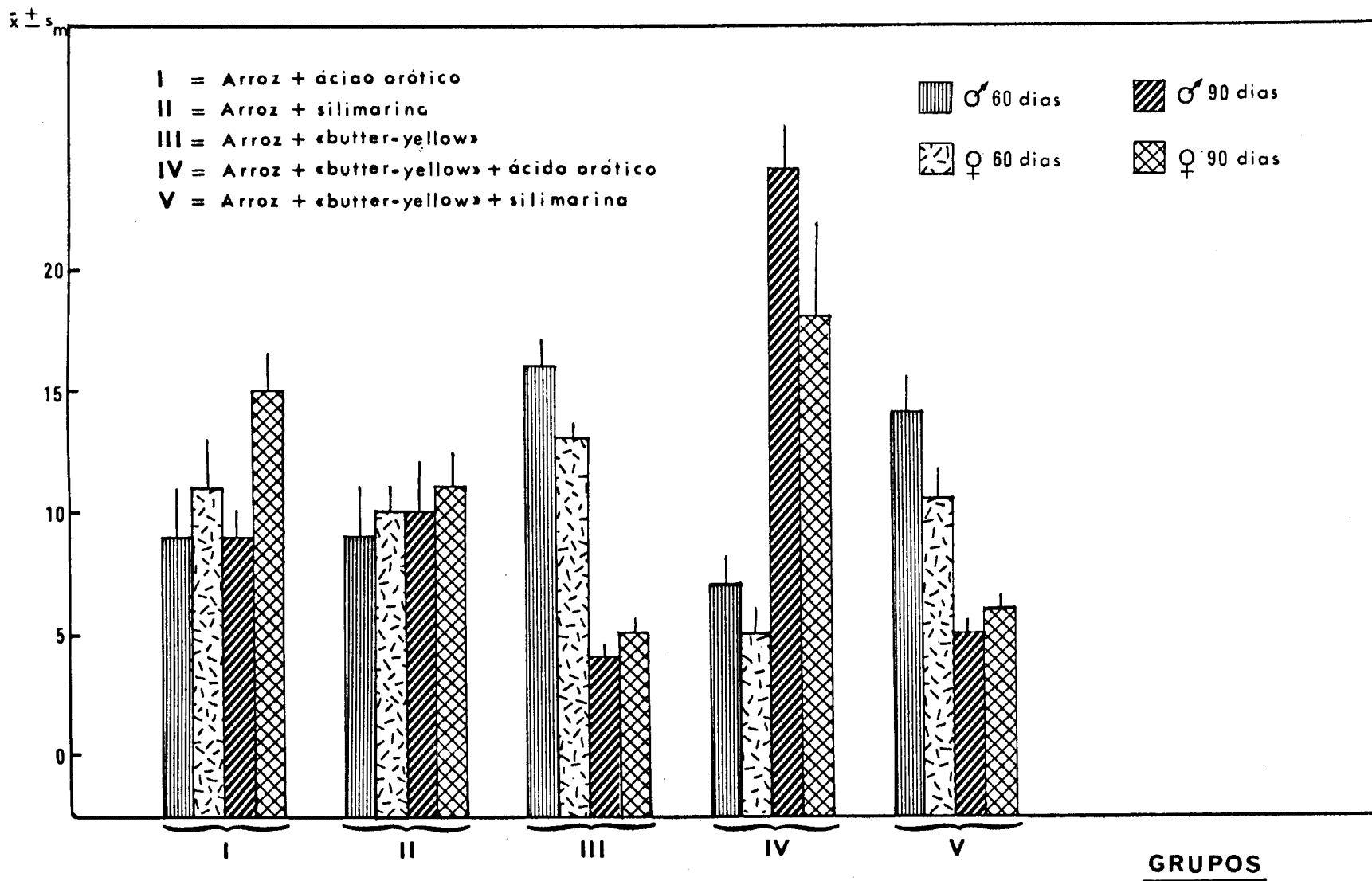
 $\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

Grupos	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	9'38 + 1'33 -	11'23 + 1'67 -	9'26 + 0'74 -	14'76 + 1'79 -
Arroz + Sili-marina	9'38 + 1'71 -	9'58 + 1'34 -	10'06 + 1'83 -	11'18 + 1'22 -
Arroz + "Butter-Yellow"	15'81 + 1'14 -	12'60 + 0'88 -	3'96 + 0'43 -	5'20 + 0'44 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Acido orótico	6'95 + 1'16 -	5'33 + 0'51 -	23'68 + 2'03 -	18'32 + 3'39 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	14'21 + 1'22 -	10'51 + 1'10 -	4'88 + 0'58 -	5'94 + 0'52 -

## Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F = 6'771;	p < 0'001
Sexos	F = 0'209;	p N.S.
Tiempos	F = 0'122;	p N.S.
Grupos x Sexos	F = 3'475;	p < 0'01
Grupos x Tiempos	F = 44'720;	p < 0'001
Sexos x Tiempos	F = 2'465;	p N.S.
Grupos x Sexos x Tiempos	F = 1'544;	p N.S.

**GRAFICA 3: TRIGLICERIDOS HEPATICOS (mg/g) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y «BUTTER-YELLOW» TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA. PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n = 12)**



significativamente, del encontrado en los animales de control y, fundamentalmente, del de las ratas con "butter yellow" sólo y del de los animales con "butter yellow" y silimarina; entre los demás grupos no aparecen diferencias significativas

- b) no hay diferencias significativas en el comportamiento de los dos sexos, que se deban con exclusividad a este componente
- c) tampoco se aprecian en relación al tiempo de dieta (60 y 90 días)
- d) si aparecen diferencias, estadísticamente significativas, en la interacción grupos x sexos. La razón de esta diferencia se encuentra con exclusividad en el acúmulo habido en los machos sometidos a dieta de "butter yellow" ácido orótico, a los 60 días de dieta
- e) vuelven a encontrarse diferencias altamente significativas en la interacción grupos x tiempos -sin considerar sexos- debiéndose las mismas a los siguientes extremos:

- acusado descenso de triglicéridos en las ratas de "butter yellow" sólo tras 90 días de dieta, en las de "butter yellow" áci-

do orótico a los 60 días de dieta y en las de "butter yellow" silimarina a los 90 días de dieta

- elevación manifiesta en el grupo de "butter yellow" ácido orótico a los 90 días de alimentación

Los valores de los grupos, cuyos promedios descienden, difieren estadísticamente de todos los demás promedios pero no entre sí, en tanto que el promedio del grupo de "butter yellow" ácido orótico 90 días, que se eleva de forma manifiesta, difiere estadísticamente de todos los demás

- f) no hay diferencias significativas en los promedios correspondientes a la interacción sexos x tiempos
- g) por último, tampoco se revela que la interacción triple sea estadísticamente significativa, sugiriendo respuestas paralelas y carencia de efecto sinérgico.

#### 4. Fosfolípidos hepáticos

El estudio del cuadro IV conduce a las siguientes consideraciones, en cuanto a efectos de las dietas y de =

(Su representación gráfica es en el siguiente)

## FOSFOLIPIDOS HEPATICOS (mg/g)

.....  
 en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
 tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

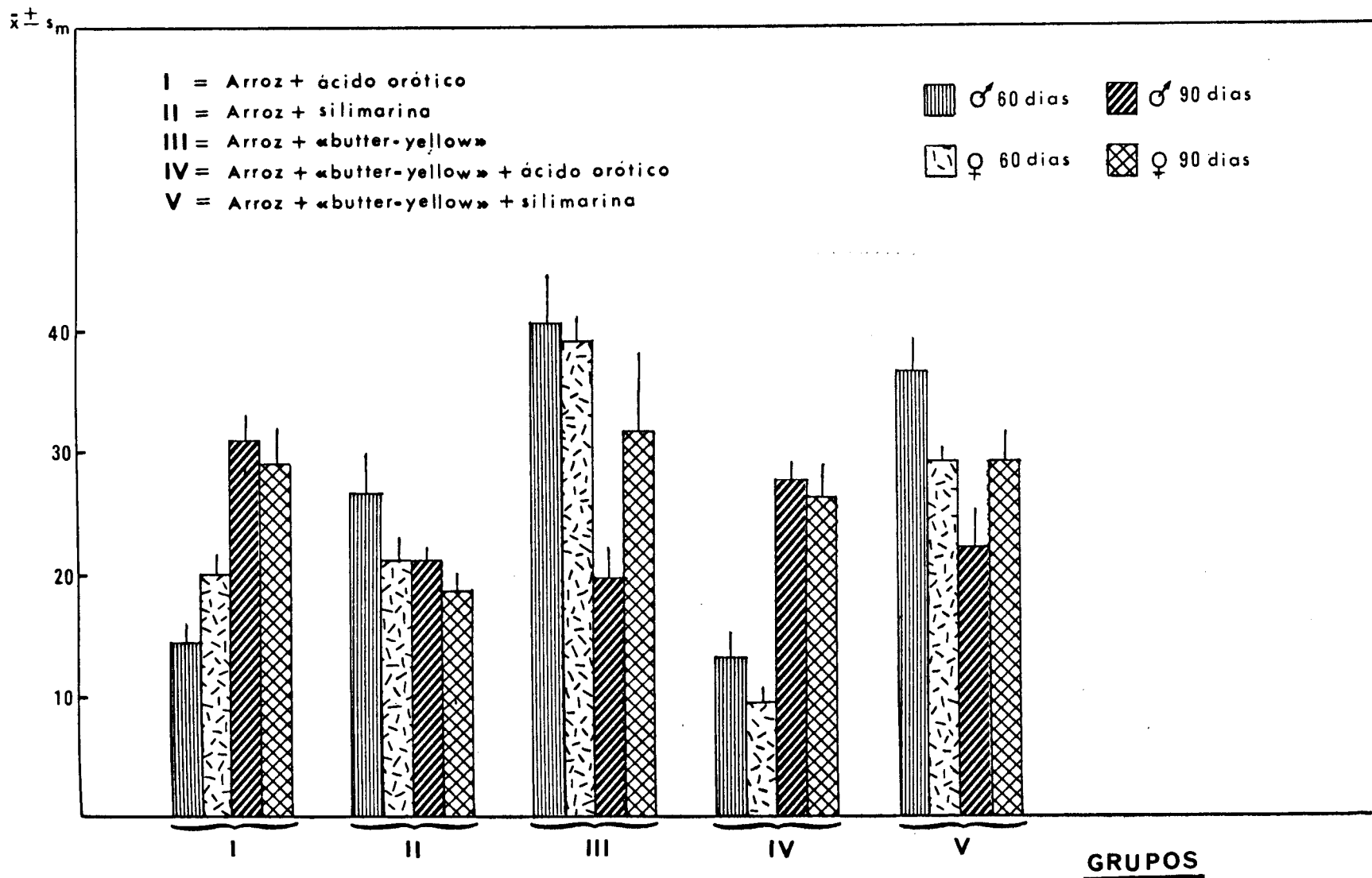
 $\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

G r u p o s	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	14'53 $\pm$ 1'47	19'81 $\pm$ 1'81	30'76 $\pm$ 2'58	29'11 $\pm$ 3'12
Arroz + Sili-marina	26'65 $\pm$ 2'90	21'12 $\pm$ 1'67	20'82 $\pm$ 0'86	18'74 $\pm$ 1'25
Arroz + "Butter-Yellow"	40'49 $\pm$ 3'85	39'07 $\pm$ 2'14	19'47 $\pm$ 2'83	31'58 $\pm$ 6'64
Arroz + "Butter-Yellow" + Aci do orótico	13'23 $\pm$ 1'77	9'35 $\pm$ 1'02	27'51 $\pm$ 1'28	26'19 $\pm$ 2'15
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	36'54 $\pm$ 2'53	29'08 $\pm$ 0'88	22'30 $\pm$ 2'73	28'80 $\pm$ 2'78

Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F = 17'604;	p < 0'001
Sexos	F = 0'002;	p N.S.
Tiempos	F = 0'209;	p N.S.
Grupos x Sexos	F = 1'908;	p N.S.
Grupos x Tiempos	F = 24'208;	p < 0'001
Sexos x Tiempos	F = 5'047;	p < 0'01
Grupos x Sexos x Tiempos	F = 2'712;	p < 0'05

**GRAFICA 4: FOSFOLIPIDOS HEPATICOS (mg/g) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y "BUTTER-YELLOW" TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA. PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n = 12)**





los tratamientos impuestos;

- a) diferencias altamente significativas entre los grupos, que se deben a una acumulación de fosfolípidos en los animales que recibieron el "butter yellow" solamente y en los que se alimentaron con este derivado azo-bencénico la adición suplementaria de silimarina; los incrementos experimentados en estos dos grupos de animales (sin incrementos experimentados en estos dos grupos de animales (sin consideración de sexos, ni duración de la dieta) se apartan, significativamente, de los valores que se hallan en los demás grupos, sin excepción, pero no difieren estadísticamente, entre sí
- b) no hay diferencias significativas en el comportamiento por sexos
- c) no hay diferencias significativas en el comportamiento por tiempos
- d) no hay diferencias significativas en el comportamiento de la interacción grupos x sexos
- e) encontramos diferencias altamente significativas, en la interacción grupos x tiempos. Estas diferencias son debidas a la aparición de un aumento de las tasas hepáticas de fosfolípidos, a los 60 días de die-

ta exclusivamente, en las ratas sometidas a dieta de "butter yellow" sólo y en las sometidas a la alimentación con el tóxico y adición simultánea de silimarina.

f) hallamos, también, una interacción sexos x tiempos, que, aunque probablemente significativa ( $p = 0,02$ ), tiene como resultado diferencias poco llamativas y, por supuesto, muy irregulares, sugiriendo una tendencia al acúmulo de fosfolípidos algo más acusada en las hembras que en los machos, al pasar de 60 a 90 días de dieta.

g) finalmente, la interacción triple, probablemente significativa ( $p = 0,05$ ) hace pensar en inexistencia de paralelismo o, lo que equivale a ello, efectos sinérgicos de los diversos componentes de variabilidad. Y así, puede demostrarse que el ácido orótico sólo, sin necesidad de adicionar "butter yellow", da lugar a un acúmulo de fosfolípidos hepáticos, en función del tiempo de dieta. Puede comprobarse, asimismo, que el tóxico, por sí, produce una acumulación de fosfolípidos en los dos sexos, a los 60 días de dieta, acúmulo que no se exagera prolongando la dieta y que, incluso, se transforma en descenso en los machos. El ácido orótico impide esta acumulación, en los dos sexos, al final de los 60 días, sin que aparezcan modificaciones significativas a los 90, ni

83

en cuanto al tóxico solo, ni en cuanto al ácido orótico aislado. La silimarina ni imprime cambio alguno significativo al comportamiento de la dieta de arroz "butter yellow".

##### 5. Transaminasa glutámico-oxal-acética

Del estudio del cuadro V -promedios y errores típicos- puede inferirse que:

- a) existen diferencias altamente significativas entre los grupos, que se deben a la aparición de un notable incremento, en las ratas alimentadas con dieta de arroz "butter yellow" y en el grupo tratado con silimarina en adición al pienso tóxico. En ambos, los promedios difieren significativamente de los dos grupos de control, pero no del lote alimentado con el tóxico, en presencia de ácido orótico. En este último grupo, el promedio de SGOT se aparta significativamente del de control, alimentado con arroz ácido orótico. Todas estas consideraciones son válidas sólo para grupos, sin independizar sexos ni tiempos
  
- b) no hay diferencias estadísticamente significativas entre los sexos

(Su representación gráfica en pag. siguiente)

SGOT (mU/ml)

.....  
 en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
 tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

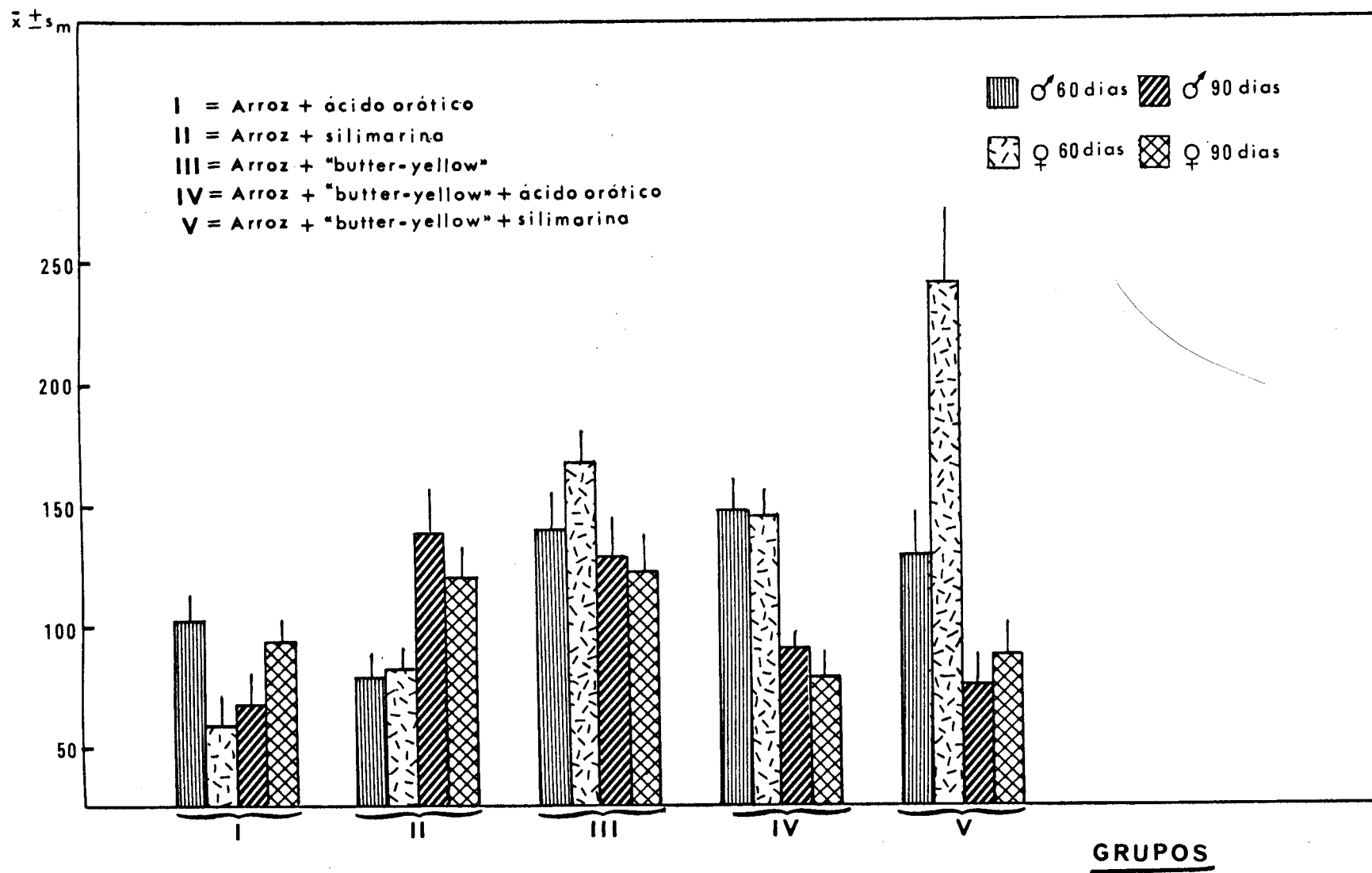
$\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

G r u p o s	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	102'50 + 13'13 -	59'42 + 14'11 -	66'83 + 11'98 -	92'00 + 9'70 -
Arroz + Sili-marina	79'50 + 9'72 -	82'50 + 8'17 -	138'67 + 17'54 -	120'42 + 12'23 -
Arroz + "Butter-Yellow"	138'83 + 16'37 -	166'42 + 13'39 -	129'42 + 17'17 -	123'42 + 13'92 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Acido orótico	148'58 + 11'49 -	145'67 + 9'50 -	89'73 + 6'56 -	79'67 + 10'49 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	129'50 + 20'14 -	240'92 + 29'67 -	75'00 + 13'18 -	87'92 + 12'94 -

Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F = 10'776;	p < 0'001
Sexos	F = 2'389;	p N.S.
Tiempos	F = 20'294;	p < 0'001
Grupos x Sexos	F = 4'397;	p < 0'01
Grupos x Tiempos	F = 16'177;	p < 0'001
Sexos x Tiempos	F = 2'042;	p N.S.
Grupos x Sexos x Tiempos	F = 4'287;	p < 0'01

**GRAFICA 5:** SGOT (mU/ml) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y "BUTTER-YELLOW" TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA.  
 PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n=12)



c) se asiste a una reducción, estadísticamente significativa, de los valores medios de SGOT a los 90 días de dieta, cuando se comparan tales promedios con los correspondientes a 60 días, sin deslindar grupos, ni sexos.

d) asimismo, aparece una interacción, estadísticamente significativa, grupos x sexos, que se debe, sobre todo, al aumento aparecido en los machos y en las hembras tratadas con "butter yellow" y en las hembras alimentadas con el tóxico y tratadas con silimarina. En todos estos lotes hay diferencias significativas con sus correspondientes controles y, en el último grupo consignado, además, con el promedio de los machos.

e) la interacción grupos x tiempos aparece, también, como altamente significativa. Se debe a las variaciones habidas en el control de los 60 días. En dicho control, encontramos un incremento notable de la SGOT, en todos los grupos alimentados con "butter yellow", llevan o no, simultáneamente, protectores hepáticos, sin que los promedios de estos tres lotes alimentados con tóxico difieran, significativamente, entre sí. En cambio, se observa que los promedios de los lotes alimentados con "butter yellow" y adición de ácido orótico y/o silimarina, difieren significativamente, de acuerdo con la duración de la dieta, -

siendo más elevadas las transaminasas en los grupos de 60 días que en los de 90

f) no hay diferencias significativas en la interacción sexos x tiempos

g) respecto a la interacción triple, vuelve a encontrarse una razón F estadísticamente significativa, que indica, por un lado, la existencia de un fenómeno de sinergia, con comportamientos no paralelos de los grupos. Del examen del cuadro V pueden extraerse las diferencias de promedios que contribuyen a esta significación estadística, teniendo en cuenta que el nivel crítico de tal diferencia debe ser de 72,29, como mínimo (test de Tukey). Según esta premisa, puede considerarse que:

- los machos alimentados con arroz ácido orótico, durante 60 días, difieren significativamente sólo de las hembras alimentadas con arroz "butter yellow" silimarina, durante 60 días.

- los machos alimentados con arroz silimarina, durante 60 días, difieren significativamente de las hembras alimentadas con "butter yellow" durante 60 días y de las alimentadas con el tóxico y silimarina durante 60 días

- los machos del lote "butter yellow" sólo, durante 60 días, difieren significativamente, de las hembras de arroz ácido orótico 60 días, y de las hembras de arroz "butter yellow" silimarina 60 días
- los machos del lote "butter yellow" ácido orótico 60 días difieren significativamente, de las hembras de arroz y ácido orótico 60 días, de las hembras de arroz, "butter yellow" y silimarina 60 días, de los machos de arroz ácido orótico 90 días y de los machos de arroz, "butter yellow" y silimarina 90 días.
- los machos del lote de arroz, "butter yellow" silimarina de 60 días (promedio = 129,50; ver cuadro V) sólo difieren, significativamente, de las hembras del mismo lote.
- las hembras de arroz ácido orótico 60 días difieren, significativamente, además del grupo ya comentado, de las hembras sometidas a alimentación de "butter yellow" 60 días, de las hembras de "butter yellow" ácido orótico 60 días y de las hembras de "butter yellow" silimarina 60 días.



89

- las hembras de arroz silimarina 60 días difieren de las de arroz "butter yellow" 60 días y de las de arroz "butter yellow" silimarina 60 días

- las hembras de arroz "butter yellow" 60 días, además de todas las diferencias antes comentadas, se apartan significativamente, en su comportamiento, de las hembras de arroz "butter yellow" silimarina 60 días, de los machos y hembras de arroz ácido orótico 90 días, de los machos y hembras de arroz "butter yellow" ácido orótico 90 días y, finalmente, de los machos y hembras de arroz "butter yellow" silimarina 90 días

- las hembras de arroz "butter yellow" ácido orótico 60 días, difieren significativamente, del grupo ya señalado anteriormente, y, además, de las hembras de arroz "butter yellow" silimarina 60 días y de los machos de arroz ácido orótico 90 días

- las hembras de arroz "butter yellow" silimarina 60 días, difieren significativamente de todos los demás grupos (muchos ya han sido aumentados) por ser el valor medio de sus cifras de transaminasas claramente elevados en

comparación con los demás grupos

- los animales de todos los grupos de 90 días de dieta sólo difieren significativamente, de los grupos ya enumerados, anteriormente, pero no entre sí

Los sentidos de las diferencias (aumento o disminución) pueden ser consultados en el cuadro V.

#### 6. Transaminasa glutámico-pirúvica

Examinado el cuadro VI, a semejanza de lo hecho con los apartados previos, podemos resumir los resultados de la manera siguiente:

- a) se encuentra una diferencia muy significativa entre los grupos, que es debida, con exclusividad, al descenso observado en el lote de ratas alimentadas con arroz "butter yellow", descenso que se aparta, significativamente, del comprobado en el grupo de animales de "butter yellow" en presencia de ácido orótico (en éste se restaura la SGPT a valores normales) y del control
- b) se ve, también, que el comportamiento de los dos sexos es, significativamente distinto, en el sentido de que los valores de SGPT, en las hembras, son

(Su representación gráfica en pag. siguiente)

SGPT ( mU/ml)

.....  
 en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
 tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

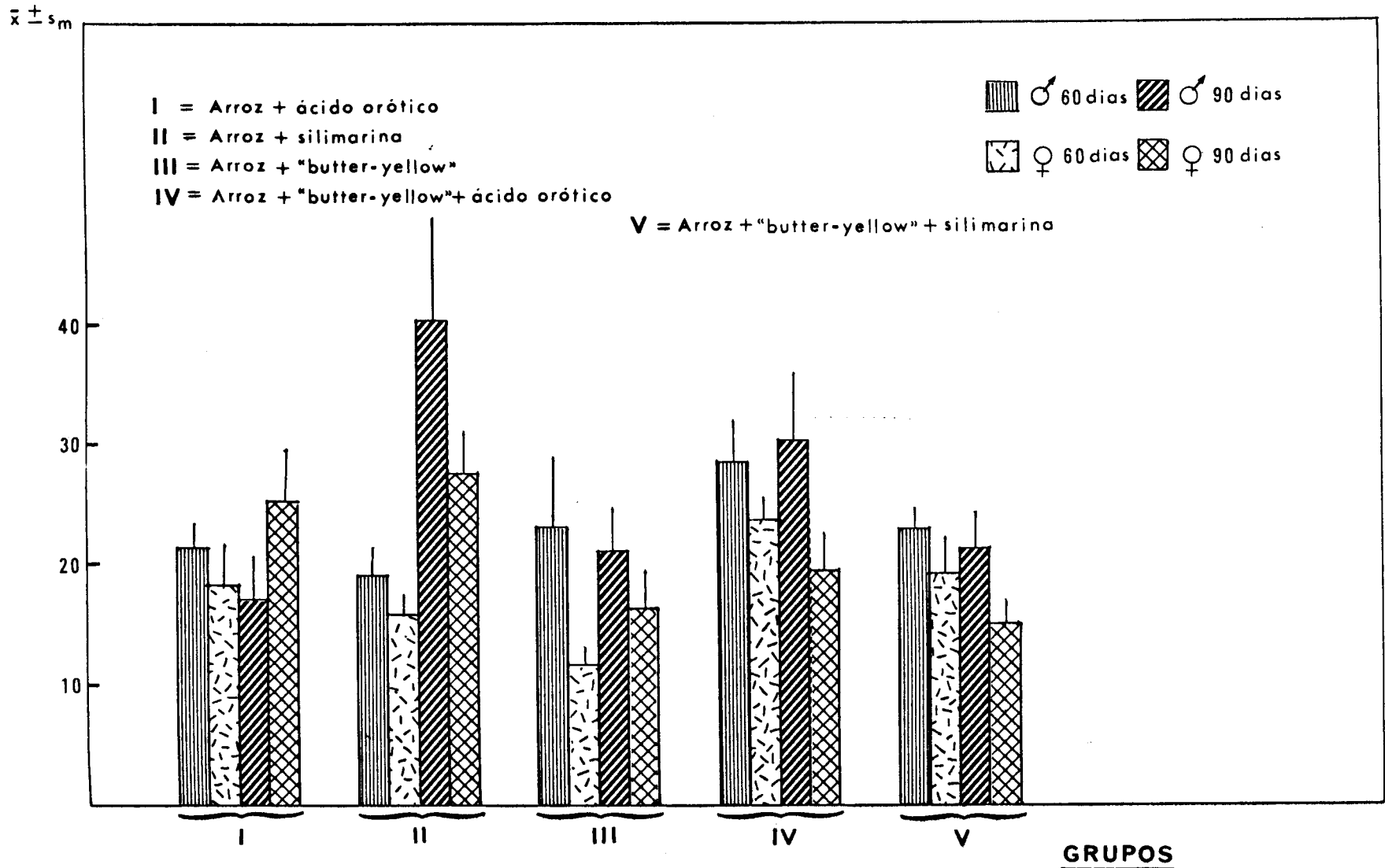
$\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

G r u p o s	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	21'08 + 2'43 -	18'33 + 3'36 -	17'08 + 3'67 -	25'18 + 4'42 -
Arroz + Sili-marina	18'75 + 2'86 -	15'75 + 1'83 -	40'25 + 8'83 -	27'50 + 3'21 -
Arroz + "Butter-Yellow"	23'00 + 5'68 -	11'75 + 1'38 -	21'33 + 3'40 -	16'46 + 2'90 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Aci do orótico	28'50 + 3'17 -	23'58 + 1'72 -	30'35 + 5'78 -	19'50 + 2'99 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	22'83 + 1'97 -	19'42 + 2'77 -	21'37 + 2'84 -	15'00 + 1'94 -

Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F =	3'322;	p < 0'01
Sexos	F =	9'645;	p < 0'01
Tiempos	F =	3'327;	p N.S.
Grupos x Sexos	F =	1'503;	p N.S.
Grupos x Tiempos	F =	4'233;	p < 0'01
Sexos x Tiempos	F =	0'009;	p N.S.
Grupos x Sexos x Tiempos	F =	1'328;	p N.S.

**GRAFICA 6:** SGPT (mU/ml) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y "BUTTER-YELLOW" TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA. PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n = 12)



inferiores a los de los machos

c) no hay diferencias significativas entre los tiempos de dieta

d) tampoco en la interacción grupos x sexos

e) en lo que respecta a la interacción grupos x tiempos, aparecen consignadas diferencias estadísticamente significativas, que se deben, sobre todo, al incremento habido en el grupo de arroz silimarina (90 días), cuyo promedio general (33,87) se aparta, significativamente, de los promedios generales que corresponden a los grupos de control de 60 días, al de "butter yellow" sólo (60 días) y al de "butter yellow" silimarina (90 días)

f) no hay diferencias significativas en la interacción sexos x tiempos

g) tampoco en la interacción triple, lo que equivale a ausencia de sinergismo y, por lo tanto, a paralelismo de las respuestas.

## 7. Proteinograma electroforético

### 7. 1. Pre-albúmina

Del examen del cuadro VII pueden extraerse las siguientes inferencias estadísticamente válidas:

- a) los grupos difieren, entre sí, de forma altamente significativa. En este sentido, lo que llama la atención es el incremento que se muestra en las ratas del 2º y del 3º grupos (arroz silimarina y arroz "butter yellow")
- b) no se ven diferencias significativas entre los sexos
- c) el tiempo de mantenimiento de la dieta tiene una decidida influencia, altamente significativa, sobre el comportamiento de esta fracción electroforética: hay un aumento a los 90 días, en comparación con los 60 días
- d) se ve una interacción probablemente significativa ( $p = 0,05$ ) de grupos  $\times$  sexos (el valor de F se halla casi en el umbral crítico). Las variaciones se deben exclusivamente, a los grupos que citamos a continuación:

(Su representación gráfica en pag. siguiente)

PROTEINOGRAMA: Pre-Albúmina (%)

.....  
 en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
 tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

$\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

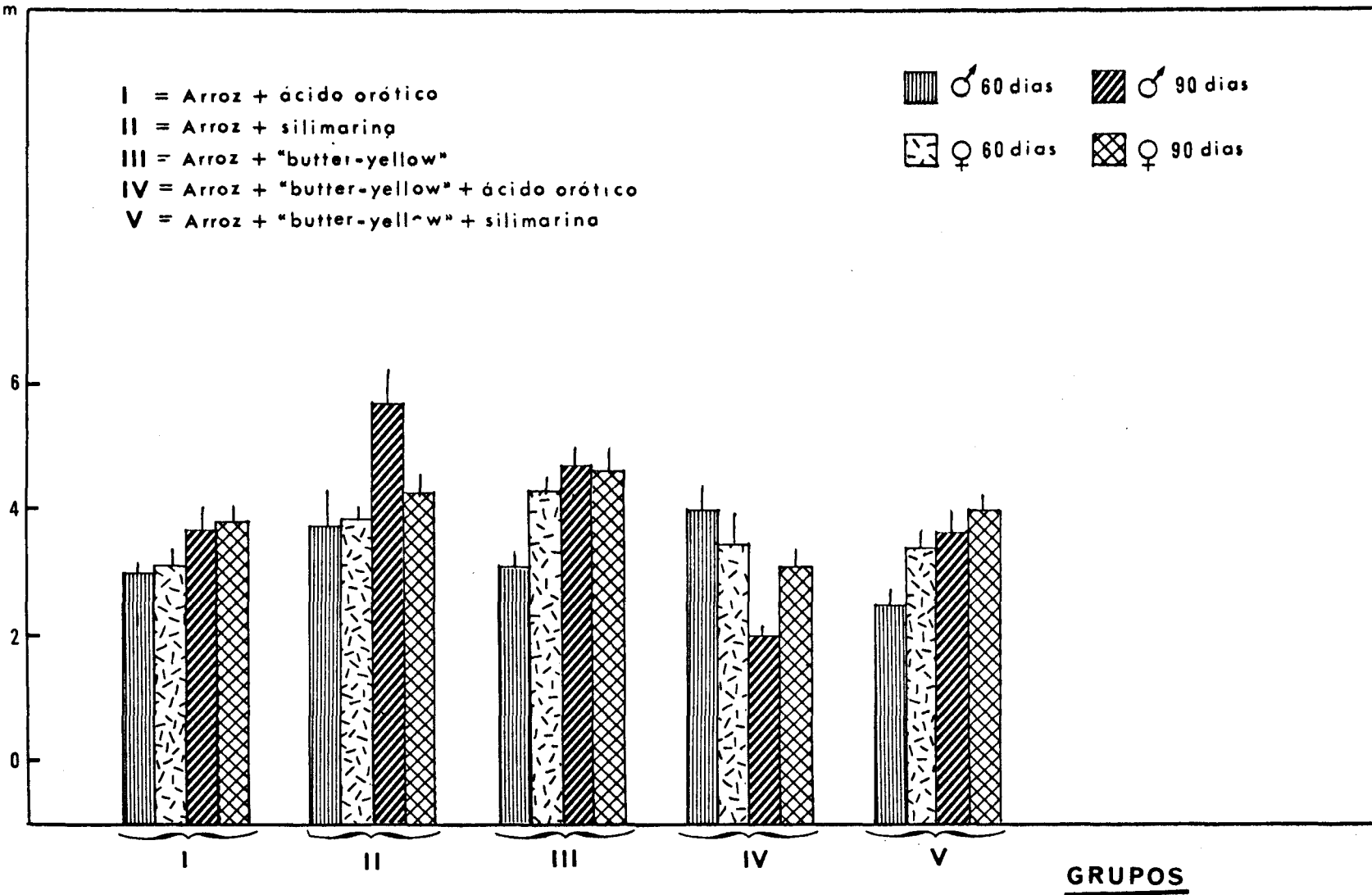
<u>Grupos</u>	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	2'94 + 0'15 -	3'12 + 0'28 -	3'69 + 0'38 -	3'79 + 0'29 -
Arroz + Sili-marina	3'77 + 0'56 -	3'85 + 0'21 -	5'72 + 0'50 -	4'28 + 0'27 -
Arroz + "Butter-Yellow"	3'11 + 0'26 -	4'29 + 0'27 -	4'68 + 0'41 -	4'64 + 0'40 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Aci do orótico	4'00 + 0'40 -	3'45 + 0'49 -	2'06 + 0'12 -	3'16 + 0'22 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	2'50 + 0'24 -	3'39 + 0'32 -	3'63 + 0'23 -	3'93 + 0'32 -

Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F = 10'723;	p < 0'001
Sexos	F = 1'433;	p N.S.
Tiempos	F = 11'748;	p < 0'001
Grupos x Sexos	F = 2'386;	p < 0'05
Grupos x Tiempos	F = 7'612;	p < 0'001
Sexos x Tiempos	F = 1'344;	p N.S.
Grupos x Sexos x Tiempos	F = 3'461;	p < 0'01

**GRAFICA 7: PROTEINOGRAMA: PRE-ALBUMINA (%) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y "BUTTER-YELLOW" TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA. PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n = 12)**

$\bar{x} \pm s_m$





- machos alimentados con arroz silimarina = elevación
- hembras alimentadas con arroz ácido orótico = descenso
- hembras alimentadas con arroz silimarina = aumento
- hembras alimentadas con arroz "butter yellow" = elevación

e) vuelven a contemplarse una diferencias altamente significativas de las interacciones grupos x tiempos, cuyo sentido es el que reflejamos, seguidamente:

- dieta de arroz silimarina 90 días = aumento
- dieta de arroz "butter yellow" 90 días = aumento
- dieta de arroz "butter yellow" ácido orótico 90 días = descenso

f) no hay significación estadística en la interacción sexos x tiempos

g) aparece una interacción triple, estadísticamente significativa, que induce a pensar en una =

sinergia de efectos y que se traduce, de forma esquemática, en los siguientes hechos:

- machos con dieta de arroz  
silimarina 90 días = aumento
- machos con dieta de arroz  
"butter yellow" 90 días = aumento
- hembras con dieta de arroz  
"butter yellow" 90 días = aumento
- machos con dieta de arroz  
"butter yellow" ácido  
orótico 90 días = tendencia  
al descenso, más acusada al comparar con  
su mismo grupo y sexos de 60 días

7. 2. Albúmina

Indicamos los diversos valores medios y de dispersión, en el cuadro VIII, de cuyo examen -al igual- que hemos venido haciendo, hasta ahora, podemos ex- traer las siguientes deducciones:

- a) no hay diferencias estadísticamente significati- vas, entre los grupos de estudio, considerados- en conjunto, sin deslindar sexos ni tiempos de-

(Su representación gráfica en el fig. siguiente)

PROTEINOGRAMA: Albúmina (%)

en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

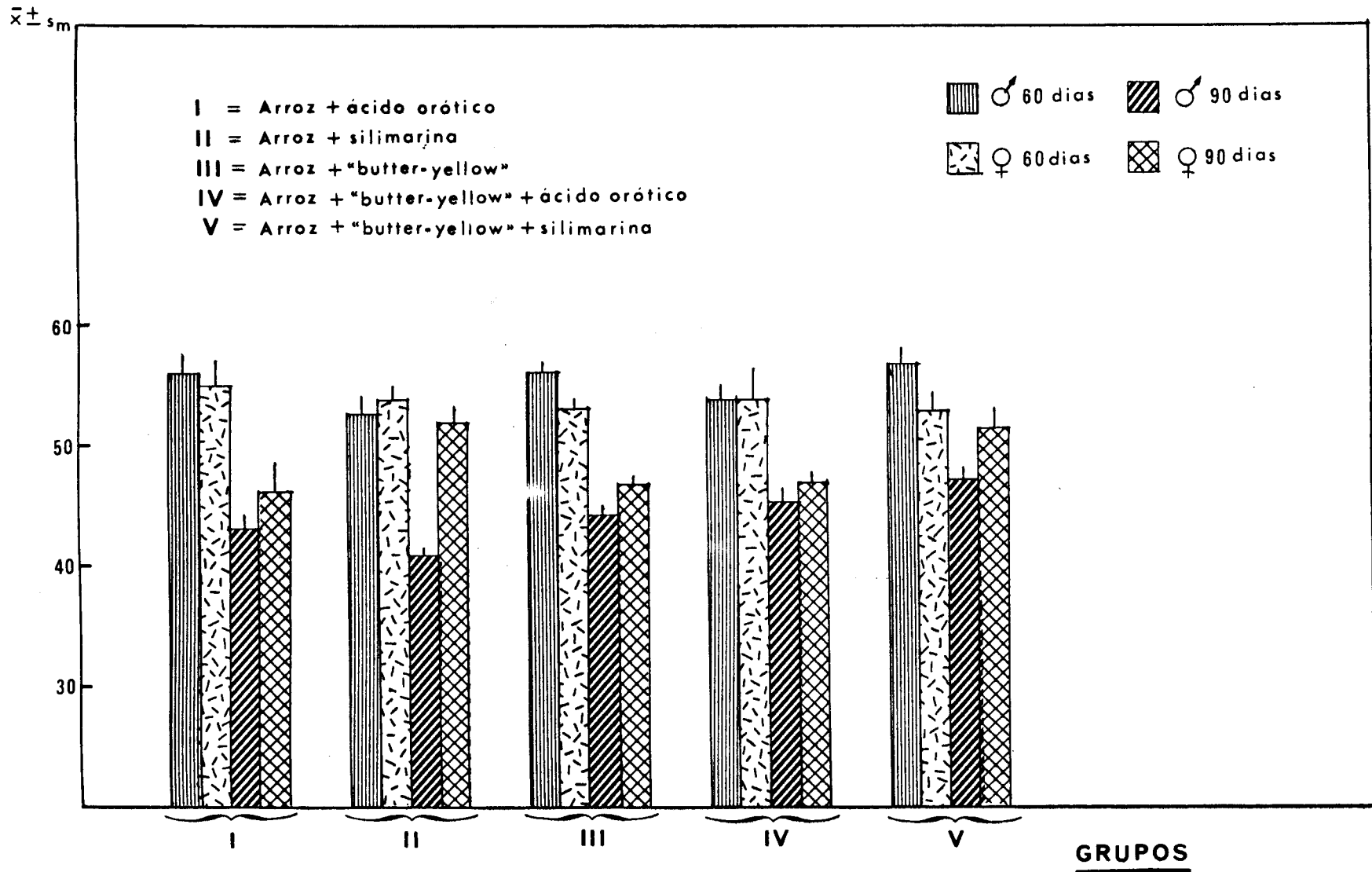
$\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

Grupos	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	56'20 ± 1'36	55'87 ± 1'44	43'17 ± 0'60	46'45 ± 1'84
Arroz + Sili-marina	52'84 ± 1'09	53'90 ± 0'78	40'91 ± 0'74	52'03 ± 0'94
Arroz + "Butter-Yellow"	56'24 ± 0'63	53'29 ± 0'82	44'18 ± 1'29	46'83 ± 0'92
Arroz + "Butter-Yellow" + Acido orótico	53'85 ± 1'29	53'81 ± 2'76	45'45 ± 0'88	46'95 ± 0'60
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	56'80 ± 1'13	52'80 ± 1'51	47'19 ± 1'02	51'54 ± 1'24

Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F = 2'064;	p N.S.
Sexos	F = 8'890;	p < 0'01
Tiempos	F = 210'312;	p < 0'001
Grupos x Sexos	F = 4'180;	p < 0'01
Grupos x Tiempos	F = 3'195;	p < 0'02
Sexos x Tiempos	F = 27'320;	p < 0'001
Grupos x Sexos x Tiempos	F = 1'916;	p N.S.

**GRAFICA 8: PROTEINOGRAMA : ALBUMINA (%) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y "BUTTER-YELLOW" TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA  
PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n = 12)**



dieta.

b) si hay diferencias significativas en el comportamiento de los sexos, de forma que las hembras tienen, en bloque, más cantidad de albúmina en su proteinograma electroforético

c) igualmente, hay diferencias altamente significativas entre los tiempos de dieta; al prolongar ésta desde 60 a 90 días, se asiste a una reducción, significativa, de la fracción albúmina

d) aparecen diferencias significativas en la interacción grupos x sexos, diferencias que se deben al descenso de la fracción albúmina de los machos sometidos a dieta de arroz silimarina, al comparar con los machos sometidos a dieta de arroz silimarina "butter yellow" (que aumenta) y con las hembras de arroz ácido orótico, de arroz silimarina, y de arroz "butter yellow" silimarina, en todas las cuales aumenta, también, en comparación con la primera,

e) hay diferencias, significativas, en la interacción grupos x tiempos. Se deben a que a los 90 días, hay un descenso acusado y, por supuesto, significativo, al comparar con los valores correspondientes de los 60 días de dieta (todos =

más altos)

f) encontramos, también, diferencias altamente significativas, en la interacción sexos x tiempos , debidas a que, tanto los machos como las hembras pero más estas últimas, presentan cifras más bajas a los 90 días de dieta, en comparación con = las de los 60 días

g) no hay diferencias significativas de la interacción triple, lo que aboga en pro de comportamiento paralelos y de ausencia de fenómenos de potenciación de las respuestas, dependientes de alguno de los tres factores considerados (dieta, sexos, tiempo de dieta).

7. 3. Alfa-1-globulina

Como puede apreciarse, estudiando el cuadro IX, hay diferencias altamente significativas, a todos los = niveles estudiados, exceptuando la interacción triple. De todo ello pueden puntualizarse los siguientes extremos:

a) descenso en las ratas de "butter yellow", no compensado por el tratamiento de silimarina, pero = si por el de ácido orótico

(Su representación gráfica es pag. siguiente)

PROTEINOGRAMA: Alfa-1-globulina (%)

.....  
 en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
 tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

$\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

Grupos	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	6'67 + 0'32 -	6'38 + 0'43 -	12'00 + 0'39 -	9'26 + 0'34 -
Arroz + Sili-marina	7'25 + 0'33 -	7'48 + 0'33 -	9'93 + 0'39 -	9'75 + 0'37 -
Arroz + "Butter-Yellow"	5'68 + 0'18 -	6'27 + 0'17 -	7'79 + 0'20 -	6'05 + 0'14 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Acido orótico	8'22 + 0'42 -	6'22 + 0'50 -	12'98 + 0'96 -	8'66 + 0'26 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	6'08 + 0'25 -	5'97 + 0'29 -	7'47 + 0'26 -	5'72 + 0'28 -


Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

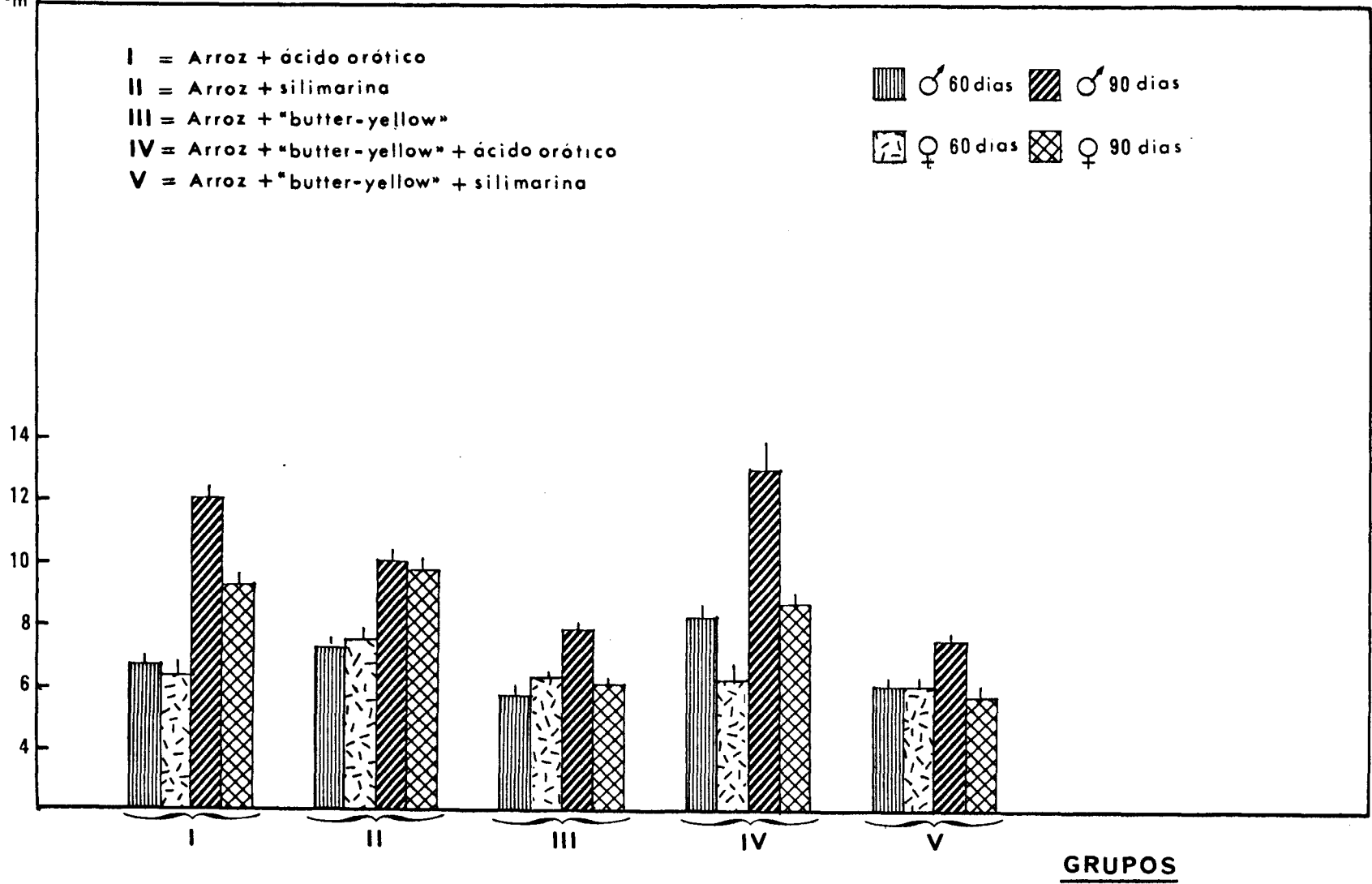
Grupos	F = 46'896;	p < 0'001
Sexos	F = 52'479;	p < 0'001
Tiempos	F = 118'971;	p < 0'001
Grupos x Sexos	F = 10'202;	p < 0'001
Grupos x Tiempos	F = 16'981;	p < 0'001
Sexos x Tiempos	F = 28'684;	p < 0'001
Grupos x Sexos x Tiempos	F = 1'272;	p N.S.

**GRAFICA 9: PROTEINOGRAMA: ALFA-I-GLOBULINA (%) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y "BUTTER-YELLOW" TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA. PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n = 12)**

$\bar{x} \pm s_m$

- I = Arroz + ácido orótico
- II = Arroz + silimarina
- III = Arroz + "butter-yellow"
- IV = Arroz + "butter-yellow" + ácido orótico
- V = Arroz + "butter-yellow" + silimarina

-  ♂ 60 dias
-  ♂ 90 dias
-  ♀ 60 dias
-  ♀ 90 dias





b) descenso en las hembras, en comparación con los machos

c) aumento general a los 90 días, en comparación con los 60 días

d) descenso en las hembras alimentadas con arroz y ácido orótico, en comparación con los machos y en las hembras de arroz "butter yellow" ácido orótico, en comparación con los machos del mismo grupo. Asimismo; descenso en los machos y en las hembras de "butter yellow" sólo, en comparación con sus controles; descenso en los machos y hembras de "butter yellow" silimarina, en comparación con sus controles y sin cambio respecto a "butter yellow" solo

e) aumento general en los dos grupos de control (ácido orótico y silimarina) a los 90 días, comparando con los 60 días y en el grupo de "butter yellow" ácido orótico a los 90 días, con respecto al valor de los 60; dentro de los 90 días se asiste a un descenso en el grupo de "butter yellow" ácido orótico, aunque éste no difiere de sus controles sin tóxico

f) en cuanto a sexos x tiempos, hay un aumento de la alfa-1-globulina al comparar 90 días con 60

días, aumento que es más acusado y significativo en los machos

g) la interacción triple no reviste significación estadística.

#### 7. 4. Alfa-2-globulina

El cuadro X da cuenta de las variaciones experimentadas, de cuyo análisis detallado se deduce las mismas consecuencias que en el caso de la alfa-1-globulina y que, ahora, omitimos por repetitivas.

#### 7. 5. Pre-beta-globulina

Del estudio del cuadro XI, teniendo en cuenta los resultados del análisis estadístico, pueden extraerse las indiferencias que se detallan a continuación

- a) no hay diferencias significativas entre los grupos de dieta
- b) no hay diferencias significativas entre los dos sexos
- c) aparecen diferencias altamente significativas entre los dos periodos de dieta, de forma que, a los 90 días, hay un incremento con respecto a los

(Su representación gráfica en pag. siguiente)

PROTEINOGRAMA: Alfa-2-globulina (%)

.....  
 en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
 tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

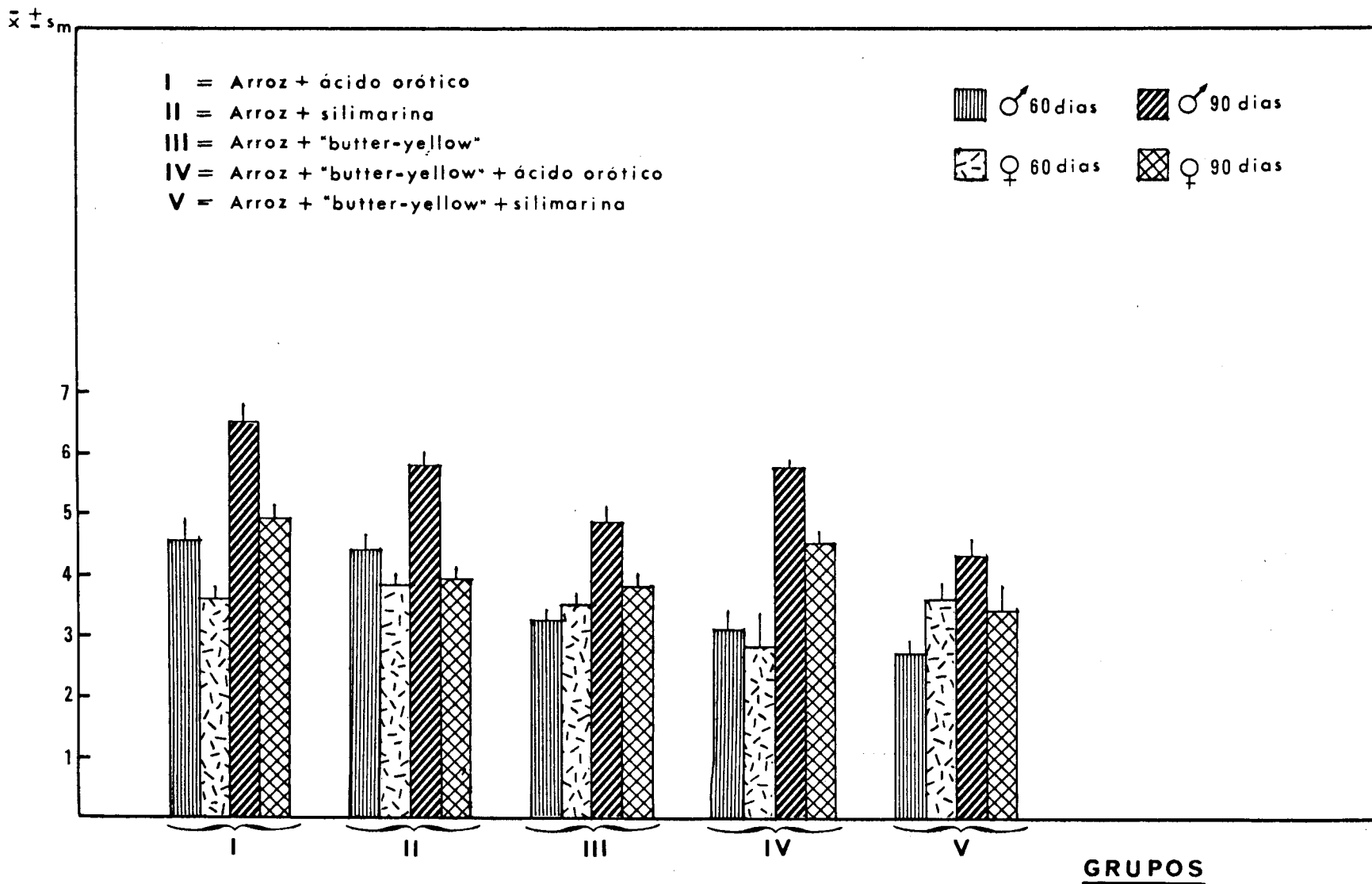
$\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

G r u p o s	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	4'58 + 0'27 -	3'64 + 0'19 -	6'53 + 0'25 -	4'89 + 0'27 -
Arroz + Sili-marina	4'40 + 0'25 -	3'80 + 0'19 -	5'81 + 0'22 -	3'92 + 0'19 -
Arroz + "Butter-Yellow"	3'25 + 0'22 -	3'48 + 0'18 -	4'86 + 0'22 -	3'81 + 0'16 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Aci do orótico	3'12 + 0'26 -	2'77 + 0'57 -	5'73 + 0'14 -	4'50 + 0'18 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	2'72 + 0'17 -	3'58 + 0'29 -	4'28 + 0'28 -	3'42 + 0'39 -

Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F = 17'660;	p < 0'001
Sexos	F = 40'552;	p < 0'001
Tiempos	F = 111'482;	p < 0'001
Grupos x Sexos	F = 4'391;	p < 0'01
Grupos x Tiempos	F = 5'773;	p < 0'001
Sexos x Tiempos	F = 24'991;	p < 0'001
Grupos x Sexos x Tiempos	F = 0'573;	p N.S.

**GRAFICA 10: PROTEINOGRAMA: ALFA-2-GLOBULINA (%) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y "BUTTER-YELLOW" TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA. PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n = 12)**



(Su representación gráfica en pg. siguiente)

PROTEINOGRAMA: Pre-beta-globulina (%)

en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

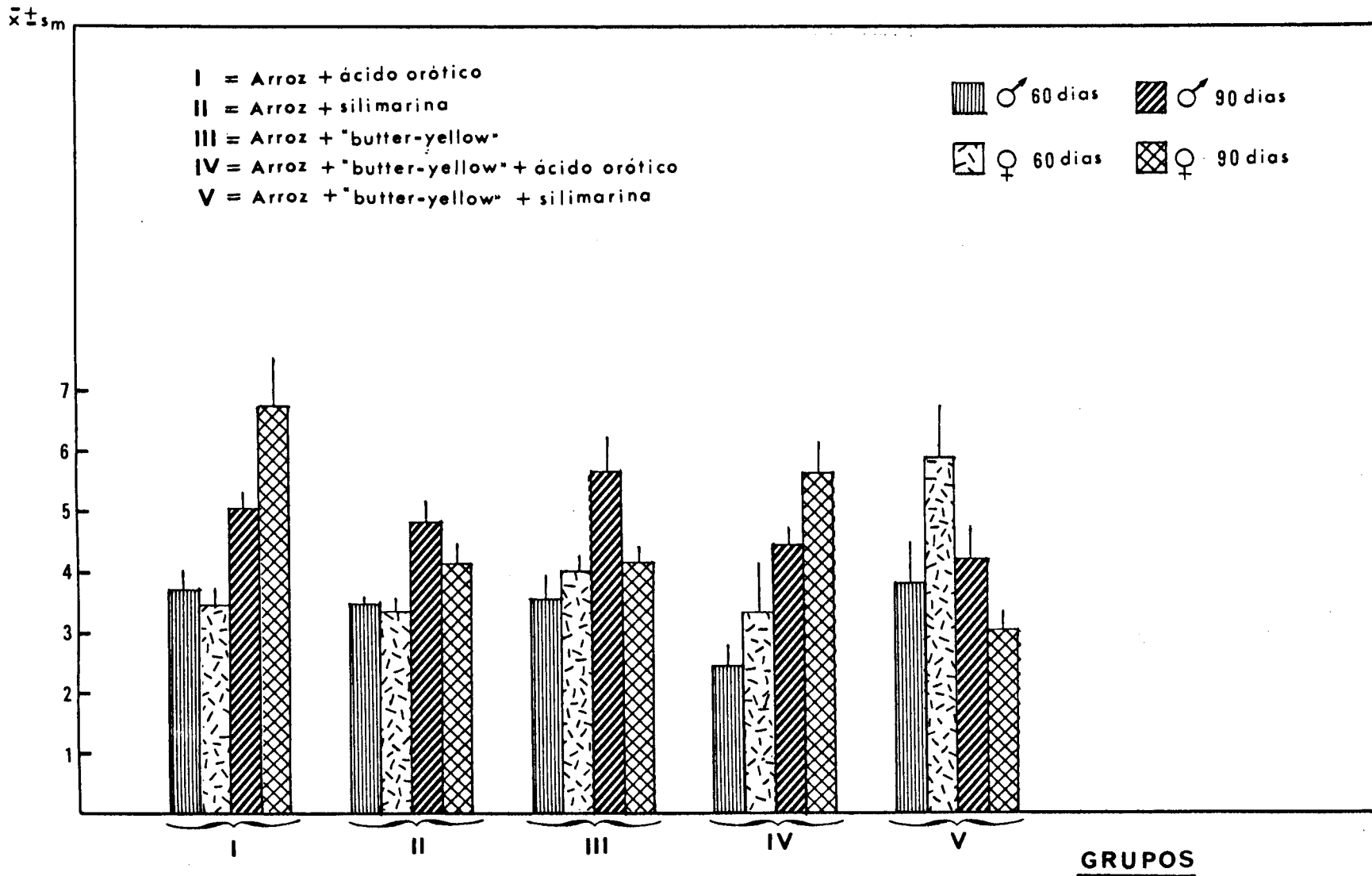
$$\bar{x} \pm s_m \quad (n = 12)$$

G r u p o s	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	3'68 ± 0'30 -	3'48 ± 0'22 -	5'07 ± 0'24 -	6'69 ± 0'79 -
Arroz + Sili-marina	3'47 ± 0'10 -	3'38 ± 0'18 -	4'78 ± 0'38 -	4'13 ± 0'30 -
Arroz + "Butter-Yellow"	3'56 ± 0'32 -	3'93 ± 0'30 -	5'65 ± 0'56 -	4'12 ± 0'25 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Aci do orótico	2'45 ± 0'29 -	3'33 ± 0'82 -	4'47 ± 0'17 -	5'59 ± 0'54 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	3'82 ± 0'63 -	5'87 ± 0'83 -	4'20 ± 0'44 -	3'05 ± 0'22 -

Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F = 2'038;	p N.S.
Sexos	F = 1'440;	p N.S.
Tiempos	F = 28'539;	p < 0'001
Grupos x Sexos	F = 2'291;	p N.S.
Grupos x Tiempos	F = 9'678;	p < 0'001
Sexos x Tiempos	F = 3'188;	p N.S.
Grupos x Sexos x Tiempos	F = 4'577;	p < 0'01

**GRAFICA 11: PROTEINOGRAMA: PRE-BETA-GLOBULINA (%) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y "BUTTER-YELLOW" TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA. PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n = 12)**



60 días

- d) no hay diferencias significativas en la interacción grupos x sexos
- e) hay diferencias estadísticamente significativas en la interacción grupos x tiempos, diferencias que se deben al incremento general de los 90 días -señalado en c)- y, además, sobre todo, en los grupos de arroz ácido orótico y de arroz ácido orótico "butter yellow", en los cuales, a los 60 días, hay un descenso manifiesto, al comparar con los 90
- f) no hay diferencias significativas en la interacción sexos x tiempos
- g) aparece, nuevamente, una interacción triple, estadísticamente, significativa, en la cual participan, principalmente, las hembras de arroz ácido orótico 90 días, cuyo porcentaje de prebeta-globulina es claramente superior a la mayoría de los demás grupos (todos los promedios que están por debajo de 4,44 difieren significativamente). La interacción significativa indica que hay una participación complementaria en factores, que contribuyen a modificar las respuestas individuales en sentido de potenciación (res

puestas no paralelas).

#### 7. 6. Beta-1-globulina

El estudio detenido de los datos expuestos en el cuadro XII nos lleva a las siguientes consideraciones:

- a) diferencias altamente significativas entre los grupos. En efecto, aparece un descenso, importante, en el grupo de ratas sometidas a la dieta tóxica exclusiva, sobre todo al comparar con los animales sometidos a la dieta de arroz ácido orótico. En comparación con éstos últimos resultan significativas los descensos habidos en el grupo de "butter yellow", en el de "butter yellow" ácido orótico y en el de "butter yellow" silimarina
- b) no hay diferencias significativas entre los sexos
- c) encontramos un aumento, altamente significativo, a los 90 días, al comparar con los 60
- d) diferencias probablemente significativas en la interacción grupos x sexos, que dependen de las variaciones que existen entre las hembras del



(Su representación gráfica en pag. siguiente)

PROTEINOGRAMA: Beta-1-globulina (%)

en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

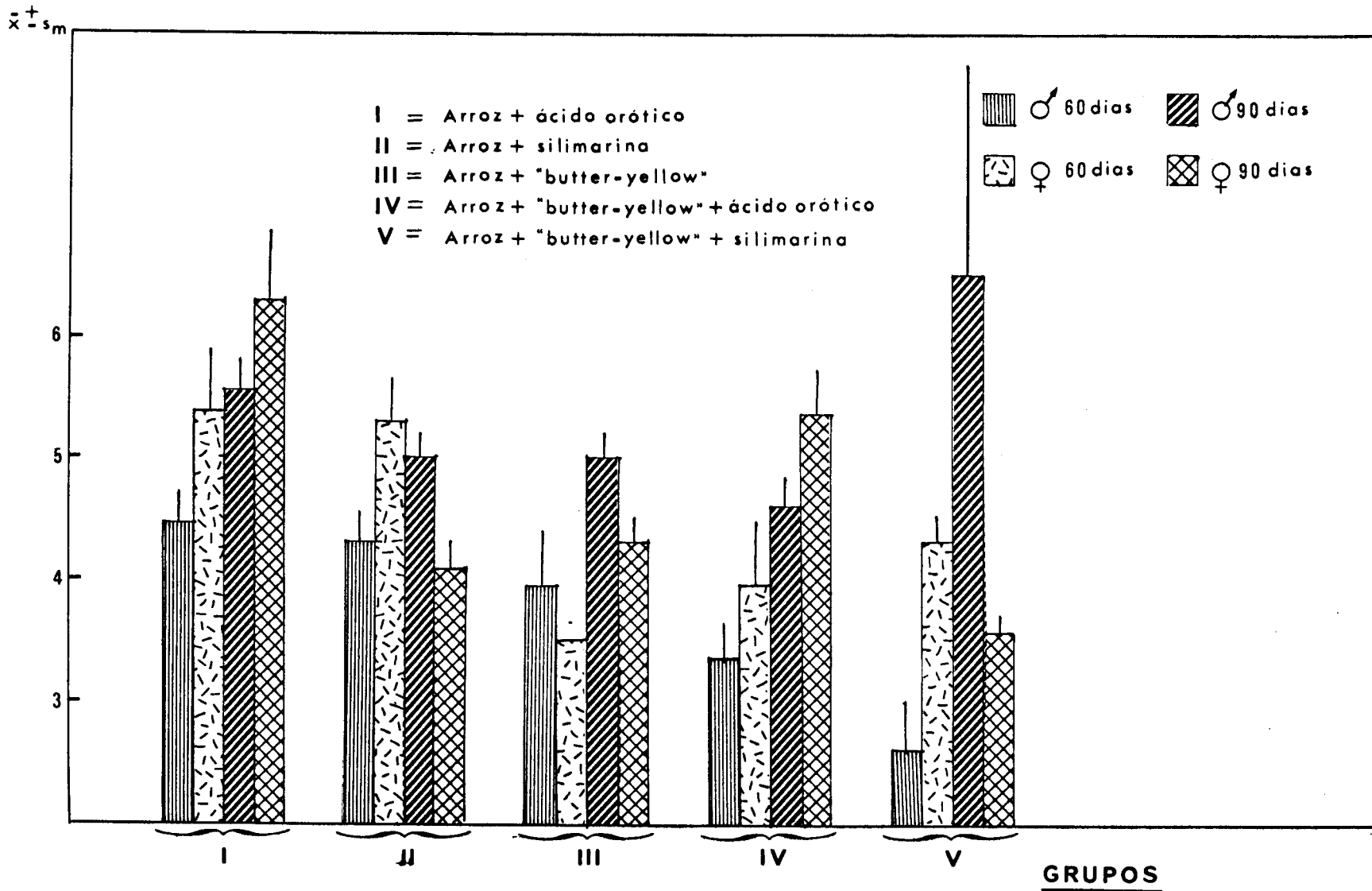
$\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

Grupos	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	4'47 + 0'22 -	5'41 + 0'52 -	5'55 + 0'23 -	6'33 + 0'51 -
Arroz + Sili-marina	4'33 + 0'20 -	5'33 + 0'32 -	5'01 + 0'19 -	4'08 + 0'21 -
Arroz + "Butter-Yellow"	3'93 + 0'48 -	3'50 + 0'15 -	4'99 + 0'23 -	4'28 + 0'21 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Acido orótico	3'36 + 0'26 -	3'95 + 0'52 -	4'60 + 0'23 -	5'36 + 0'37 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	2'59 + 0'38 -	4'28 + 0'23 -	6'50 + 1'24 -	3'55 + 0'16 -

Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F = 6'298;	p < 0'001
Sexos	F = 0'154;	p N.S.
Tiempos	F = 23'561;	p < 0'001
Grupos x Sexos	F = 2'691;	p < 0'05
Grupos x Tiempos	F = 2'949;	p < 0'02
Sexos x Tiempos	F = 13'356;	p < 0'001
Grupos x Sexos x Tiempos	F = 5'736;	p < 0'001

**GRAFICA 12: PROTEINOGRAMA: BETA-1-GLOBULINA (%) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y "BUTTER-YELLOW" TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA  
PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n=12)**



1º grupo (arroz y ácido orótico), con aumento, y los machos del 4º grupo ("butter yellow" ácido orótico), las hembras del 3º grupo ("butter yellow") y las hembras del 5º grupo ("butter yellow" silimarina), con descenso, en todos ellos

- e) diferencias probablemente significativas en la interacción grupos x tiempos, que dependen del incremento experimentado a los 90 días, en el grupo 1º, y de los descensos a los 60 días de las ratas de los grupos 3º, 4º y 5º (todos con "butter yellow")
- f) diferencias altamente significativas en la interacción sexos x tiempos, ya que, a los 90 días, hay más beta-l-globulina que a los 60 días, además, este incremento es más ostensible en los machos
- g) finalmente, la interacción triple, altamente significativa, aparte de postular en pro del efecto sinérgico, corrobora que las mayores divergencias corren a cargo de los machos alimentados durante 90 días con arroz "butter yellow" silimarina, cuyo promedio es el más elevado (6,50, cuadro XII), y de los machos del mismo grupo dietético pero de 60 días (prome—

dio más bajo = 2,59). El nivel crítico de la diferencia entre cada dos promedios, para resultar estadísticamente significativo, debe ser, = al menos, de 2,10, de acuerdo con el test de = Tukey. Puede comprobarse que, en tal sentido, = la participación más importante en la diferenciación corre a cargo, principalmente, de los = siguientes grupos:

- grupos de "butter yellow" de 60 días sin y con tratamiento hepatoprotector simultáneo, excepto las hembras de silimarina (descenso en todos)
- hembras de "butter yellow" silimarina durante 90 días (descenso).

#### 7. 7. Beta-2-globulina

En el caso de esta fracción proteinográfica sólo encontramos diferencias altamente significativas entre los grupos y en la interacción triple, no siendo significativas las variaciones de los otros componentes (cuadro MIII).

En cuanto a diferencias entre los grupos, éstas son debidas al aumento experimentado por todos los grupos sometidos a la dieta de "butter yellow" con o = sin protectores, ya que éstos no parecen influir, =

(Su representación gráfica en pag. siguiente)

PROTEINOGRAMA: Beta-2-globulina

.....  
 en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
 tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

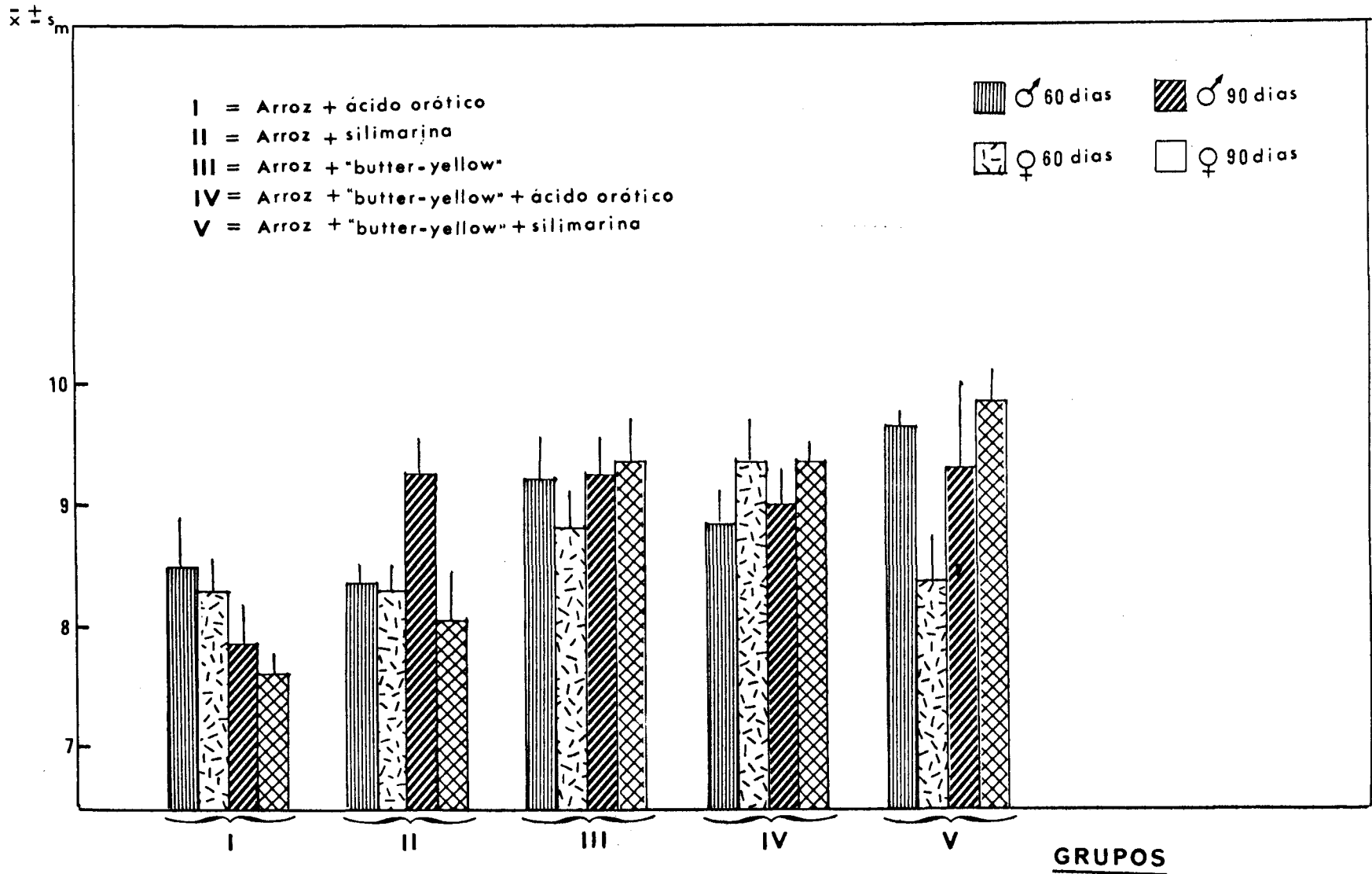
$\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

G r u p o s	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	8'48 + 0'41 -	8'31 + 0'24 -	7'86 + 0'32 -	7'59 + 0'16 -
Arroz + Sili-marina	8'35 + 0'16 -	8'28 + 0'21 -	9'25 + 0'30 -	8'04 + 0'42 -
Arroz + "Butter-Yellow"	9'21 + 0'34 -	8'83 + 0'29 -	9'25 + 0'29 -	9'39 + 0'30 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Aci do orótico	8'84 + 0'25 -	9'39 + 0'31 -	9'00 + 0'27 -	9'35 + 0'14 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	9'66 + 0'27 -	8'37 + 0'33 -	9'31 + 0'66 -	9'86 + 0'25 -

Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F = 11'487;	p < 0'001
Sexos	F = 1'567;	p N.S.
Tiempos	F = 0'693;	p N.S.
Grupos x Sexos	F = 1'626;	p N.S.
Grupos x Tiempos	F = 2'235;	p N.S.
Sexos x Tiempos	F = 0'405;	p N.S.
Grupos x Sexos x Tiempos	F = 3'020;	p < 0'02

**GRAFICA 13: BETA-2-GLOBULINA (%) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y "BUTTER-YELLOW" TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA. PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n = 12)**



en ningún sentido, sobre el citado aumento. En cuanto a la interacción triple, las diferencias surgen, sobre todo, al comparar machos y = hembras con tóxico y machos y hembras sin él, = siendo significativa toda diferencia que alcance, al menos el nivel crítico de 1,60 (Tukey)

### 7. 8. Fibrinógeno

Las variaciones observadas en la distribución porcentual de esta fracción del proteinograma (cuadro XIV) nos permite emitir las siguientes formulaciones:

- a) los grupos difieren, entre sí, muy significativamente. Estas diferencias son debidas, sólo = al aumento que experimentan los animales sometidos a la dieta de arroz "butter yellow" ácido orótico, en comparación con su control = (arroz ácido orótico), puesto que los demás promedios generales no se diferencian
- b) no hay diferencias significativas entre sexos =
- c) aparece registrado un incremento a los 60 días, más acusado que a los 90

(Su representación gráfica en página siguiente)

## PROTEINOGRAMA: Fibrinógeno (%)

.....  
 en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
 tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

 $\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

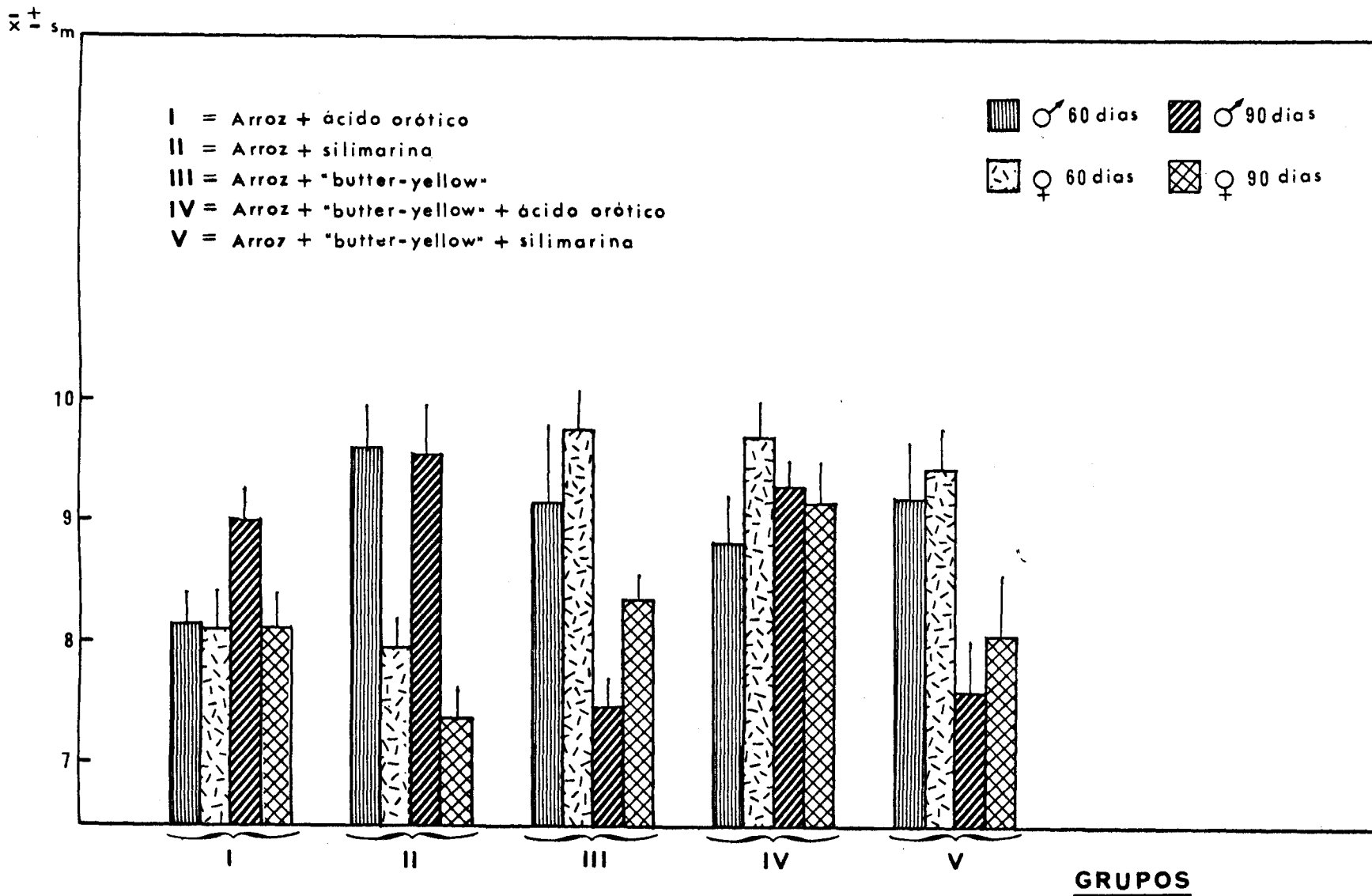
<u>Grupos</u>	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	8'17 + 0'21 -	8'09 + 0'32 -	9'01 + 0'24 -	8'12 + 0'26 -
Arroz + Sili-marina	9'61 + 0'33 -	7'93 + 0'25 -	9'57 + 0'37 -	7'37 + 0'23 -
Arroz + "Butter-Yellow"	9'15 + 0'63 -	9'76 + 0'32 -	7'45 + 0'23 -	8'34 + 0'23 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Acido orótico	8'82 + 0'40 -	9'71 + 0'34 -	9'32 + 0'18 -	9'18 + 0'32 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	9'19 + 0'46 -	9'41 + 0'36 -	7'58 + 0'40 -	8'06 + 0'51 -

Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F =	3'811;	p < 0'01
Sexos	F =	1'522;	p N.S.
Tiempos	F =	14'050;	p < 0'001
Grupos x Sexos	F =	9'575;	p < 0'001
Grupos x Tiempos	F =	6'586;	p < 0'001
Sexos x Tiempos	F =	1'383;	p N.S.
Grupos x Sexos x Tiempos	F =	0'769;	p N.S.



**GRAFICA 14: FIBRINOGENO (%) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y "BUTTER-YELLOW" TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA. PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n = 12)**



- d) hay interacciones grupos x sexos, estadísticamente significativa. Indica que en los machos de arroz silimarina y en las hembras de arroz "butter yellow" ácido orótico hay un incremento del fibrinógeno, no ostensible, significativamente, en todos los grupos
- e) hay, también, diferencias altamente significativas en la interacción grupos x tiempos, dependientes de los incrementos de los grupos de "butter yellow" 60 días, de "butter yellow" ácido orótico 60 días, de "butter yellow" ácido orótico 90 días y de "butter yellow" silimarina 60 días
- f) no hay diferencias significativas en la interacción sexos x tiempos
- g) finalmente, tampoco, en la interacción triple (carencia de efectos potenciadores)

#### 7. 9. Gama-globulina

En el examen de las modificaciones experimentadas por este parámetro (cuadro XV) llegamos a las siguientes conclusiones estadísticas:

- a) diferencias altamente significativas entre los

(Su representación gráfica es la siguiente)

PROTEINOGRAMA: Gamma-globulina (%)

.....  
 en ratas sometidas a dieta de arroz y "butter-yellow",  
 tratadas con ácido orótico y/o silimarina.

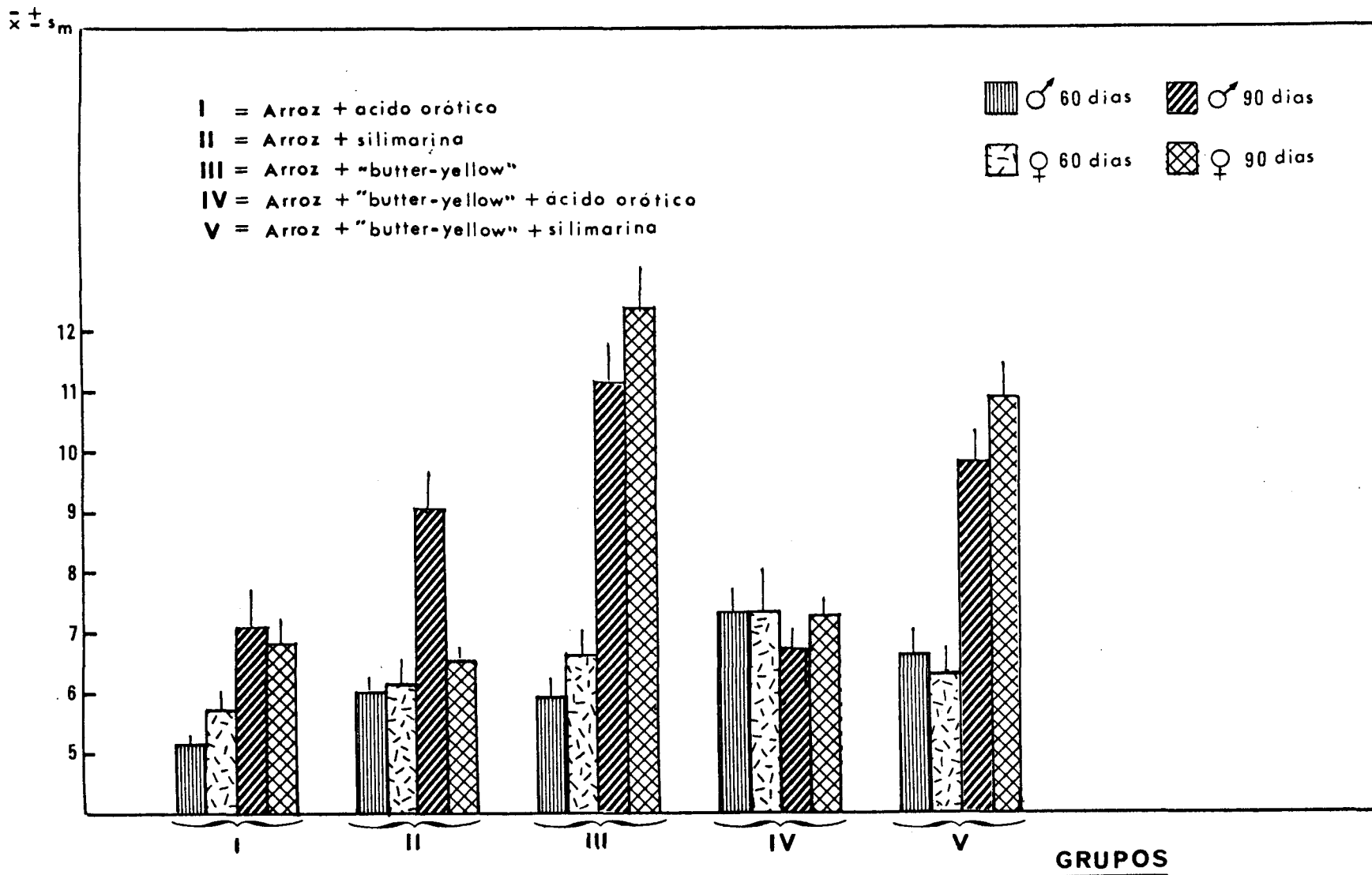
$\bar{x} \pm s_m$  (n = 12)

Grupos	Tiempo de sobrecarga dietética			
	60 días		90 días	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Arroz + Acido orótico	5'14 + 0'20 -	5'69 + 0'33 -	7'09 + 0'60 -	6'80 + 0'38 -
Arroz + Sili-marina	5'96 + 0'26 -	6'11 + 0'39 -	9'03 + 0'59 -	6'53 + 0'21 -
Arroz + "Butter-Yellow"	5'87 + 0'33 -	6'64 + 0'27 -	11'14 + 0'60 -	12'35 + 0'63 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Acido orótico	7'32 + 0'32 -	7'36 + 0'58 -	6'71 + 0'32 -	7'25 + 0'29 -
Arroz + "Butter-Yellow" + Silimarina	6'62 + 0'35 -	6'31 + 0'36 -	9'81 + 0'47 -	10'85 + 0'56 -

Razones de varianza (F) y nivel de probabilidad (p)

Grupos	F = 28'872;	p < 0'001
Sexos	F = 0'393;	p N.S.
Tiempos	F = 164'771;	p < 0'001
Grupos x Sexos	F = 3'468;	p < 0'01
Grupos x Tiempos	F = 28'019;	p < 0'001
Sexos x Tiempos	F = 0'388;	p N.S.
Grupos x Sexos x Tiempos	F = 3'319;	p < 0'02

**GRAFICA 15: PROTEINOGRAMA: GAMMA-GLOBULINA (%) EN RATAS SOMETIDAS A DIETA DE ARROZ Y "BUTTER-YELLOW" TRATADAS CON ACIDO OROTICO Y/O SILIMARINA. PROMEDIO  $\pm$  ERROR TIPICO (n = 12)**



grupos; debido al incremento experimentado por los animales sometidos a la dieta de "butter yellow" solo y de "butter yellow" silimarina

- b) no hay diferencias de comportamiento entre sexos
- c) diferencias altamente significativas entre los tiempos; hay un aumento importante a los 90 días en comparación con los 90.
- d) diferencias significativas en la interacción grupos x sexos; incremento en las hembras y machos de "butter yellow" solo y de "butter yellow" silimarina
- e) diferencias altamente significativas en la interacción grupos x tiempos; aumentos importantes en los animales alimentados con "butter yellow" solo y con "butter yellow" silimarina, tras 90 días de dieta.
- f) no hay interacciones significativas de sexos x tiempos
- g) finalmente, existe una interacción triple, probablemente significativa, que depende, sobre todo, de los aumentos a los 90 días, en todos-

los animales del grupo de arroz "butter yellow" y en las hembras de 90 días de arroz "butter yellow" silimarina. En nivel crítico de diferencias se encuentra en el valor 2,15 (Tukey).

8. Estudio anatomopatológico

El examen anatómico de las piezas hepáticas recogidas en todos los animales empleados en las pruebas, no nos ha permitido señalar tendencias especiales en cuanto al efecto hepatoprotector frente a la acción tóxica del "butter yellow"

Las alteraciones estructurales encontradas, en general, pueden ser clasificadas en tres grandes apartados, de mayor a menor gravedad;

- a) adenocarcinoma, que se inicia en los hepatocitos de la periferia de los lobulillos, reemplazando el tejido noble y que varía por su grado de invasión. Las glándulas atípicas del adenocarcinoma tienen capacidad secretante presentando acúmulos, dentro de las glándulas, de material PAS positivo (mucopolisacaridos) y material PAS negativo, que interpretamos como pigmento biliar. En los animales con intensa carcinogénesis (PAS) se encuentra, en todos los hepatocitos no afectados por la neoplasia, el protoplasma lleno de glucógeno, circunstancia que interpretamos como la consecuencia

de un fallo metabólico de la célula hepática, con mala movilización del material energético

- b) cirosis evolutiva, que oscila -según los casos - desde una hepatitis activa hasta una típica cirrosis anular, con degeneración grasa
- c) signos de esteatosis, con escasa alteración estructural y sin acúmulo de glucógeno; en muchos - de estos animales, sin cancer ni cirrosis, aparecen células atípicas manifiestas en la periferia - de los lobulillos, constituidas por hepatocitos - grandes -incluso de más de 100 micras con núcleos - gigantes, a veces binucleados y nucleados muy - acidófilos; tales elementos no aparecen cuando el cancer está plenamente desarrollado.

Del examen anatómico, por grupos, extraemos las siguientes consideraciones:

- 1º.- La dieta de arroz, adicionada de las sustancias hepatoprotectoras (ácido orótico y silimarina) no conduce a cambios marcados de la estructura hepática, ni incluso a los 90 días, exceptuando algunas fibrosis discretas y otras alteraciones poco significativas, que se encuentran con frecuencia, en los hígados de las - ratas y que son debidas a procesos inflamatorios - y/o infecciones intercurrentes ( microfoto-

grafías 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). Los dos hepatoprotectores, pues, por si solos, no son capaces de provocar alteraciones importantes.

2º.- El "butter yellow", en cambio, si provoca los trastornos más ostensibles, de fibrosis, degeneración grasa, cirrosis y colangiocarcinoma, cambios que están íntimamente relacionados con la duración de su periodo de actuación, ya que las alteraciones son máximas a los 90 días, en comparación con los 60 días. Los cambios estructurales más precoces consistieron en fibrosis discreta, degeneración grasa e hiper cromasia de algunos núcleos (microfotografías 8 y 9) para transformarse, al prolongar la dieta tóxica, en cirrosis y colangiocarcinoma (microfotografía 10, 11, 12, 13). De todos los animales sometidos a la dieta de arroz y el derivado del azobenceno, solamente en dos (8% aproximadamente) se conservó una estructura normal del hígado, a los 60 días de dieta, en tanto que, a los 90, hubo alteraciones importantes en todos (necrosis, desestructuraciones, cirrosis, etc.).

3º.- La adición de ácido orótico a la dieta tóxica, no cambia la tendencia a la gravedad de las lesiones ocasionadas por el "butter yellow" e, incluso, parece orientada hacia la presencia de cirrosis más pre



coces (microfotografías 14 y 15) y proliferaciones anormales de conductos biliares, de aspecto carcinomatoso (microfotografía 16).

4º.- La asociación de silimarina y de "butter yellow" no modificó, tampoco, de forma significativa, la evolución propia del tóxico, aunque en este grupo se observó una menor tendencia a la cirrosis en los periodos más cortos de dieta (microfotografía 17), presentándose alteraciones menos llamativas desde el punto de vista estructural, en tanto, que, al prolongar la administración de tóxico y fármaco (90 días), no se alteró el curso de las lesiones de forma ostensible (microfotografía 18) a pesar de hallarse, en algún caso, cambios discretos solamente (microfotografía 19).

VII. CONCLUSIONES.

VII. 1/ En relación al peso de los animales

- 1) La adición de "butter - yellow" a la dieta de arroz da lugar a un retraso del desarrollo ponderal de los animales estudiados.
- 2) Tal efecto resulta mucho más evidente en las hembras.
- 3) Los fármacos administrados -Ac. orótico y Silimarina- no impiden el bloqueo de la curva de peso.
- 4) La prolongación de la experiencia (90 días), permitió que los machos a los que se administró Ac. orótico tuvieran una evolución corporal normal.

VII. 2/ En relación a los parámetros analíticos en tejido hepático

- 5) El tóxico administrado induce una esteatosis hepática, con acúmulo de lípidos en dicha viscera.
  - 6) No interfiere tal depósito ni el peso de los animales, ni el sexo de los mismos.
  - 7) Al mantener la experiencia hasta los 90 días, los animales sometidos a dieta tóxica más Ac. orótico duplican las tasas de lípidos almacenados.
  - 8) En las mismas circunstancias la Silimarina, por el contrario, redujo ese valor casi en un 50 %
- 
- 9) El Para-dimetil-azobenceno ofrecido con el pienso a los animales produjo, a la larga, un marcado descenso del contenido hepático en triglicéridos.

- 10) La Silimarina se muestra ineficaz para antagonizar el efecto anterior.
  - 11) El Ac. orótico por el contrario aumenta el almacenamiento hepático de triglicéridos.
  - 12) Este acúmulo es más ostensible en los machos.
- 
- 13) Existe una elevación de fosfolípidos hepáticos en los animales sobrecargados en su ingesta con "butter - yellow".
  - 14) La Silimarina es incapaz de bloquear el efecto anterior.
  - 15) El Ac. orótico sí se muestra útil en su antagonización del tóxico.
  - 16) Dicha acción es sobre todo evidente en la 1ª fase (60 días) de la experiencia.

VII. 3/ En relación a las determinaciones plasmáticas.

- 17) El impacto de tóxico incrementa significativamente las concentraciones plasmáticas de la transaminasa-glutámico-oxalacética, en los animales que lo ingirieron.
- 18) Ni el Ac. orótico, ni la Silimarina, consiguen impedir dicho incremento.
- 19) Las hembras sometidas a Silimarina más tóxica, son las que alcanzan unas cifras más elevadas de tal enzima.

20) Sin embargo, tanto la Silimarina como el Ac. orótico son capaces de estabilizar las cifras anteriores cuando se administran prolongadamente (90 días)

---

21) Las ratas sometidas a "butter -yellow" presentan un significativo descenso de las tasas plasmáticas de transaminasa glutámico-pirúvica.

22) Dicha reducción es más ostensible en las animales hembras.

23) El Ac. orótico es capaz de normalizar la cantidad de aquella constante.

24) La Silimarina no impide el referido descenso.

---

25) El tóxico utilizado eleva significativamente la fracción pre-albúmina del proteinograma.

26) Efecto similar aparece cuando se administra conjuntamente con el tóxico el Ac. orótico.

27) Lo contrario sucede cuando el "butter - yellow" se administra asociado a Silimarina.

28) El mantenimiento de la experiencia (90 días) • invierte los supuestos anteriores (26) y 27) •

---

29) El para-dimetil-azobenceno no modifica los niveles de la fracción albúmina del proteinograma.

30) En conjunto, las hembras presentan unas cifras • de albúmina superior a la de los machos.

31) Al prolongar la experiencia hasta 90 días, no se

modifican los asertos precedentes.

- 32) El Ac. orótico y la Silimarina no producen ninguna modificación.
- 

- 33) La ingestión de "butter - yellow" hace descender la fracción alfa-1-globulina del proteinograma.

- 34) A largo plazo (90 días), el Ac. orótico es capaz de neutralizar el efecto del tóxico.

- 35) El aumento que se produce es mucho más acentuado en los machos.

- 36) La administración de Silimarina no consigue impedir la acción del tóxico en esos 90 días.
- 

- 37) La dieta tóxica con "butter - yellow" reduce la concentración proteica de alfa-2-globulina.

- 38) La Silimarina no antagoniza el efecto anterior.

- 39) El Acido orótico sí se muestra capaz de hacerlo, si se alarga la experiencia hasta 3 meses.

- 40) Esta elevación es menos acentuada en los animales hembras.
- 

- 41) El "butter - yellow" no ejerce ningún efecto tóxico sobre la pre-beta-globulina del proteinograma electroforético

- 42) La Silimarina no ofrece interacción con el tóxico

- 43) Similar comportamiento presenta el Ac. orótico.

- 44) El comportamiento de los dos sexos ha sido superponible a lo largo del estudio.

- 45) Los animales sometidos a dieta tóxica presentan un notable descenso de la beta-1-globulina del espectro proteico.
- 46) El descenso no es antagonizado por la interacción de Ac. orótico.
- 47) Tampoco la Silimarina ejerce ningún efecto protector alguno.
- 48) Existe la excepción de los machos tratados con Silimarina durante 90 días, en los que no sólo se neutraliza el tóxico, sino que se superan los valores de los animales controles.

- 
- 49) La adición de "butter - yellow" a la dieta de arroz eleva las fracción proteica de beta-2-globulina.
- 50) No es posible evitar este ascenso tratando a los animales con Silimarina ó Ac. orótico
- 51) La prolongación de la experiencia hasta 90 días no introduce modificación alguna.
- 52) El factor sexo carece de representatividad.

- 
- 53) La administración de "butter - yellow" no modifica el porcentaje de fibrinógeno del proteinograma. No obstante, existe un marcado descenso de las mismas si se prolonga la experiencia hasta 90 días.
- 54) El Ac. orótico administrado con el tóxico, impide dicho descenso.

- 55) La Silimarina no es capaz de neutralizar el efecto del tóxico.
- 56) El comportamiento de ambos sexos durante la experiencia fué similar.
- 
- 57) El tóxico, impone una elevación de los niveles de gamma-globulina del proteinograma
- 58) El Ac. orótico administrado con el tóxico fué capaz de inhibir dicho incremento.
- 59) La Silimarina ejerce una acción similar sólo en los primeros 60 días de la experiencia. Más tarde (90 días) no logra imponer una acción frenadora de la elevación de globulina gamma.
- 60) El sexo de los animales ni jugó ningún papel en la prueba.

#### VII. 4/ En relación a las lesiones anatomopatológicas

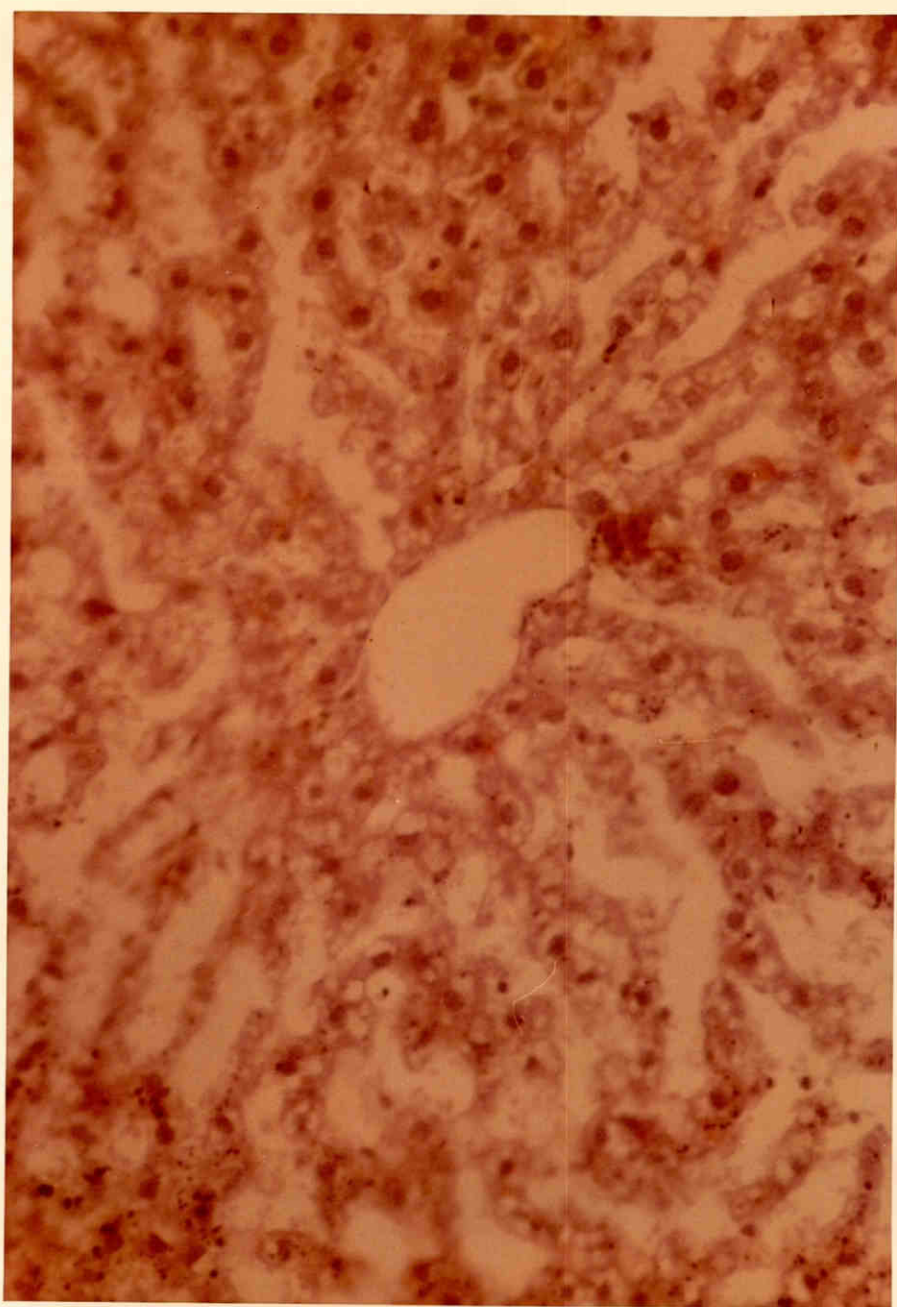
- 61) Ni la Silimarina ni el Ac. orótico, producen modificaciones significativas de la morfología hepática.
- 62) El "butter - yellow" tiene una marcada capacidad hepatotóxica, cuya lesividad está en relación directa con el tiempo de actuación.
- 63) Las lesiones que llega a inducir son, en orden creciente de gravedad: fibrosis, esteatosis-colestasis, cirrosis y colangiocarcinoma.
- 64) El Ac. orótico no es capaz de antagonizar la capacidad lesional del tóxico y, además, provoca unas



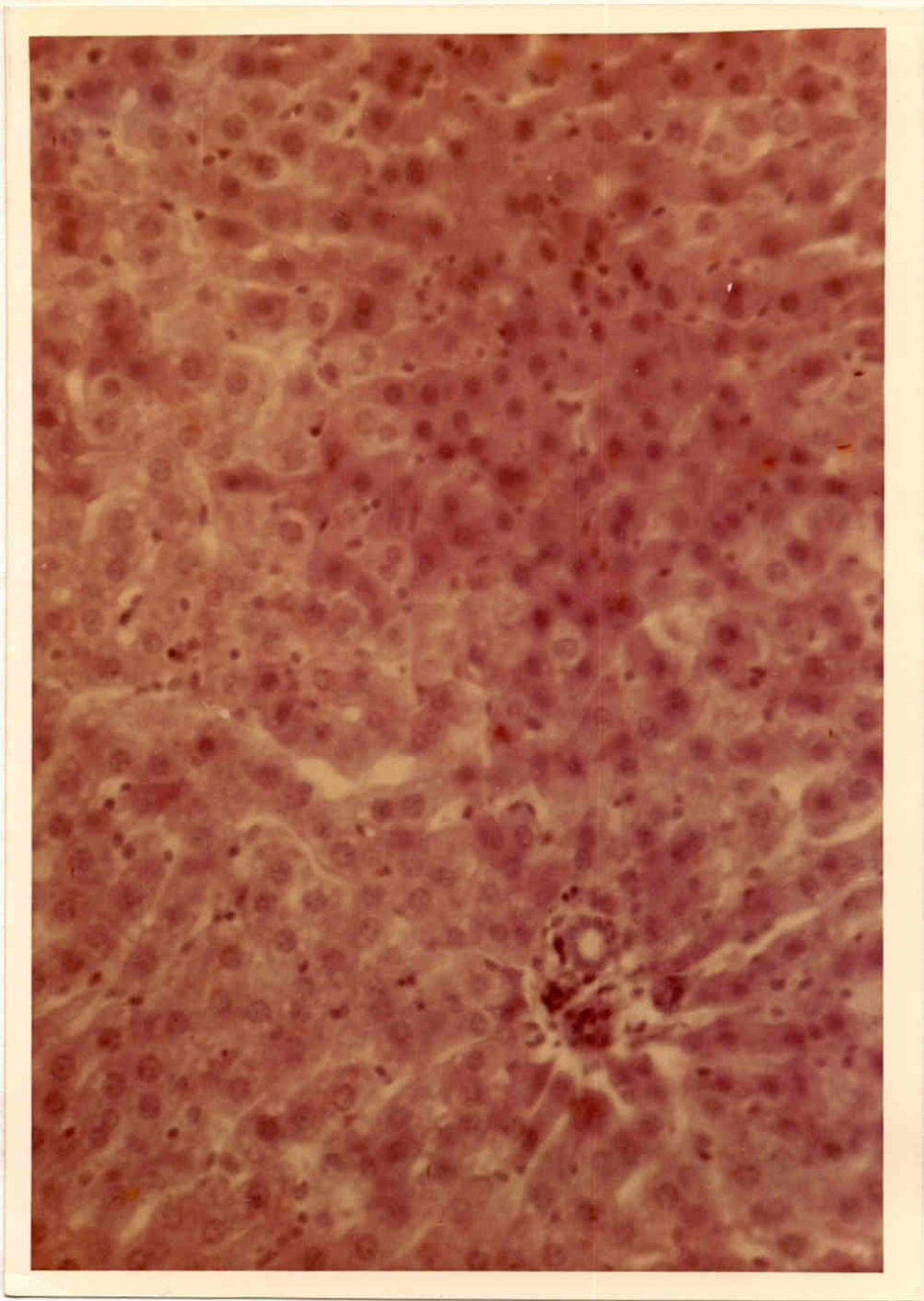
proliferaciones anómalas de los conductos biliares, con aspecto neoplásico.

- 65) Tampoco la Silimarina protegió al hígado de los animales frente al "butter - yellow", aunque las lesiones tardaron más tiempo en hacerse ostensibles que en el punto anterior y tuvieron también menor que ellas la tendencia a evolucionar desfavorablemente.

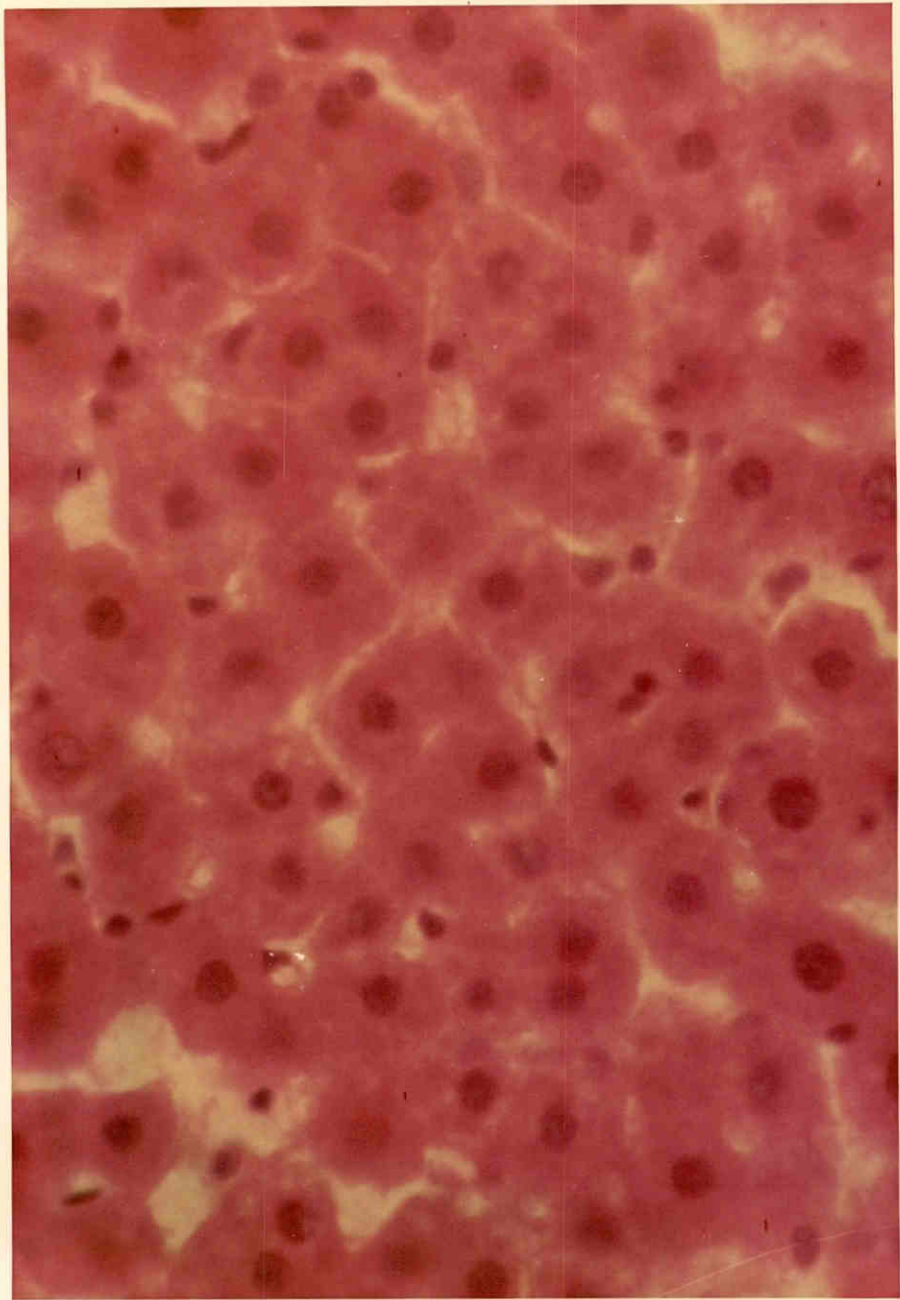
VIII. ICONOGRAFIA.



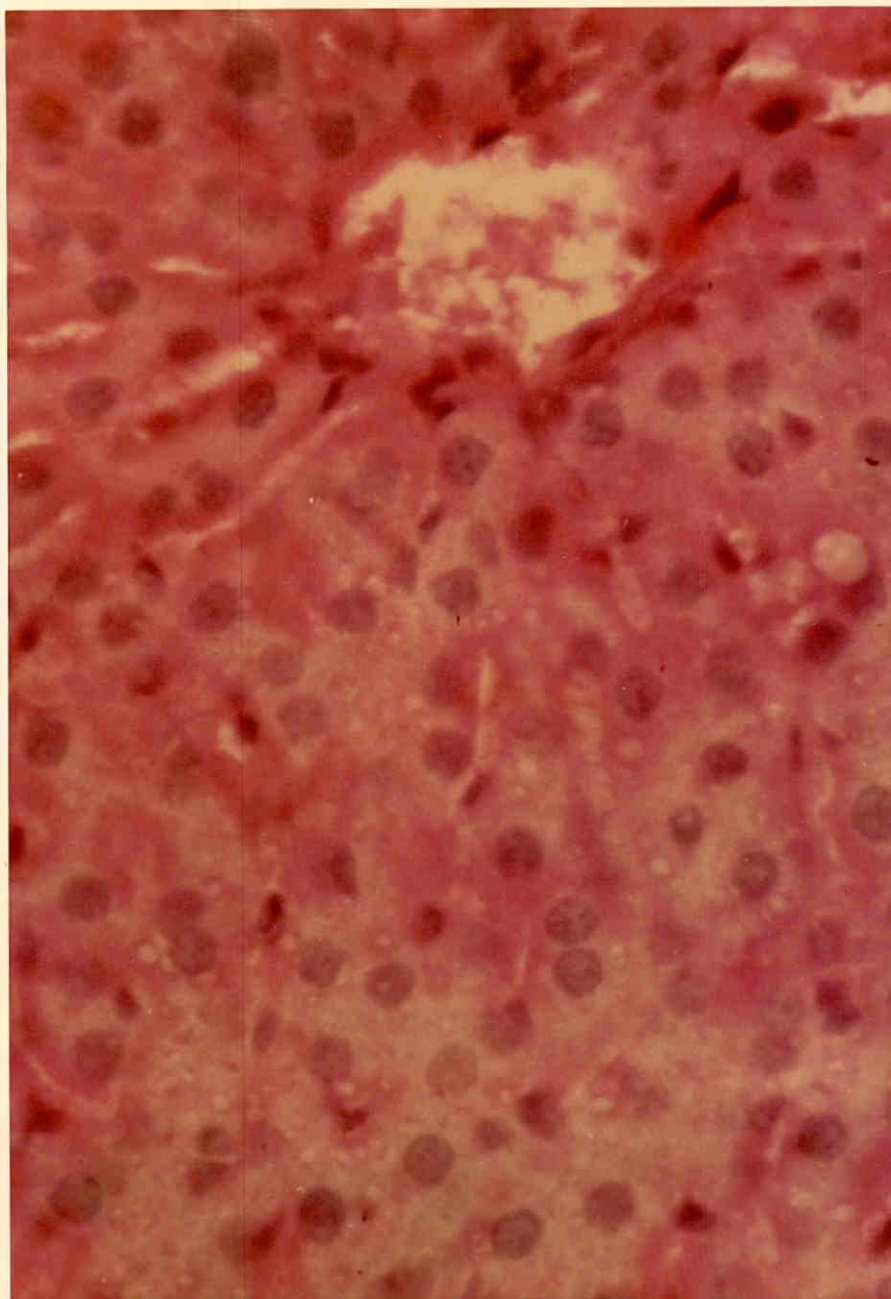
Microfotografía nº 1: Corte hepático de rata S.D. macho sometida a dieta de arroz ácido orótico durante 60 días. Hematoxilina-eosina, 160x. Vena central y sinusoides muy dilatados.



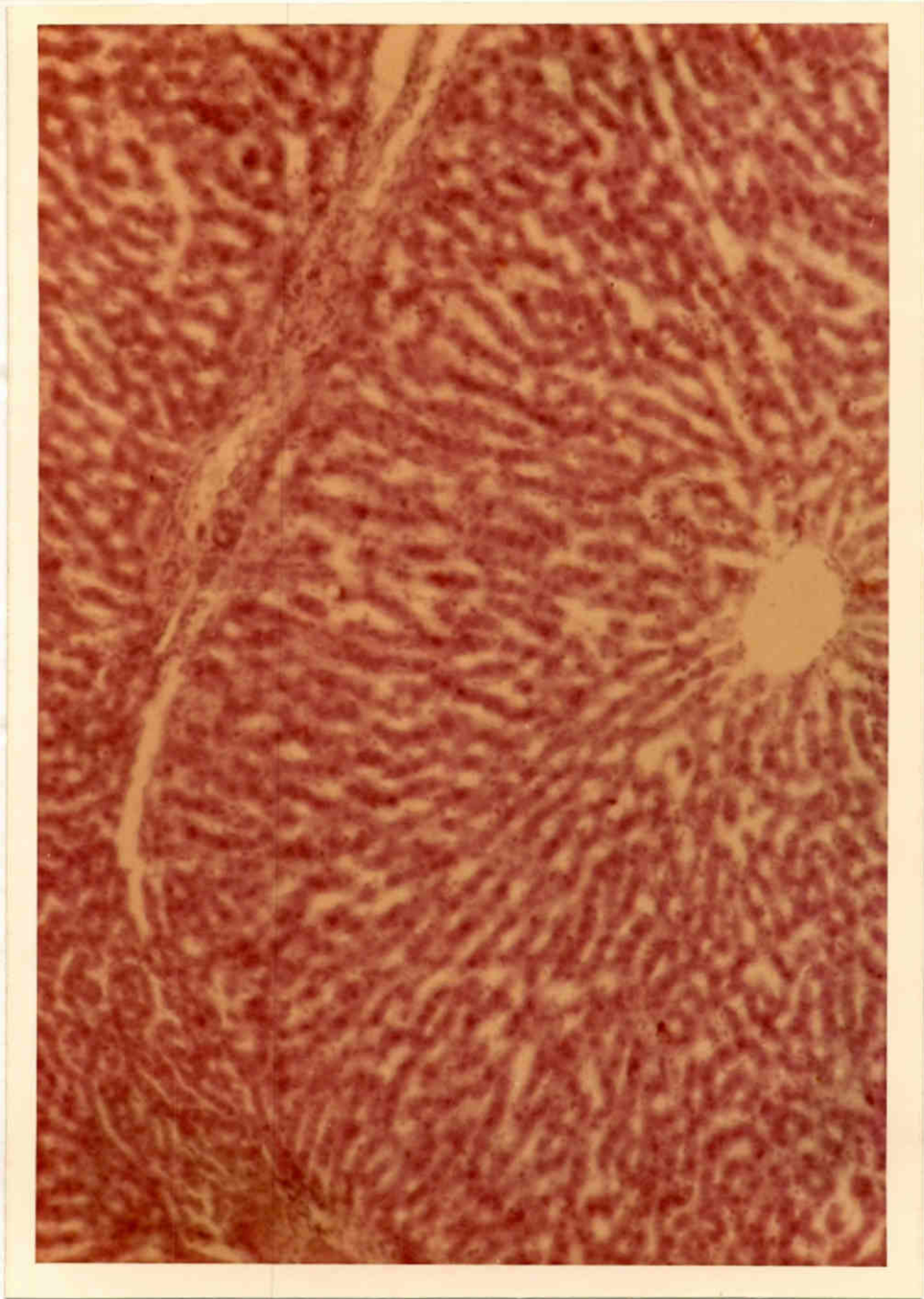
Microfotografía nº 2: Corte hepático de rata S.D. hembra, sometida a dieta de arroz ácido orótico durante 60 días. Hematoxilina-eosina, 160x. Espacio porta y células con distintas apetencias tintoriales.



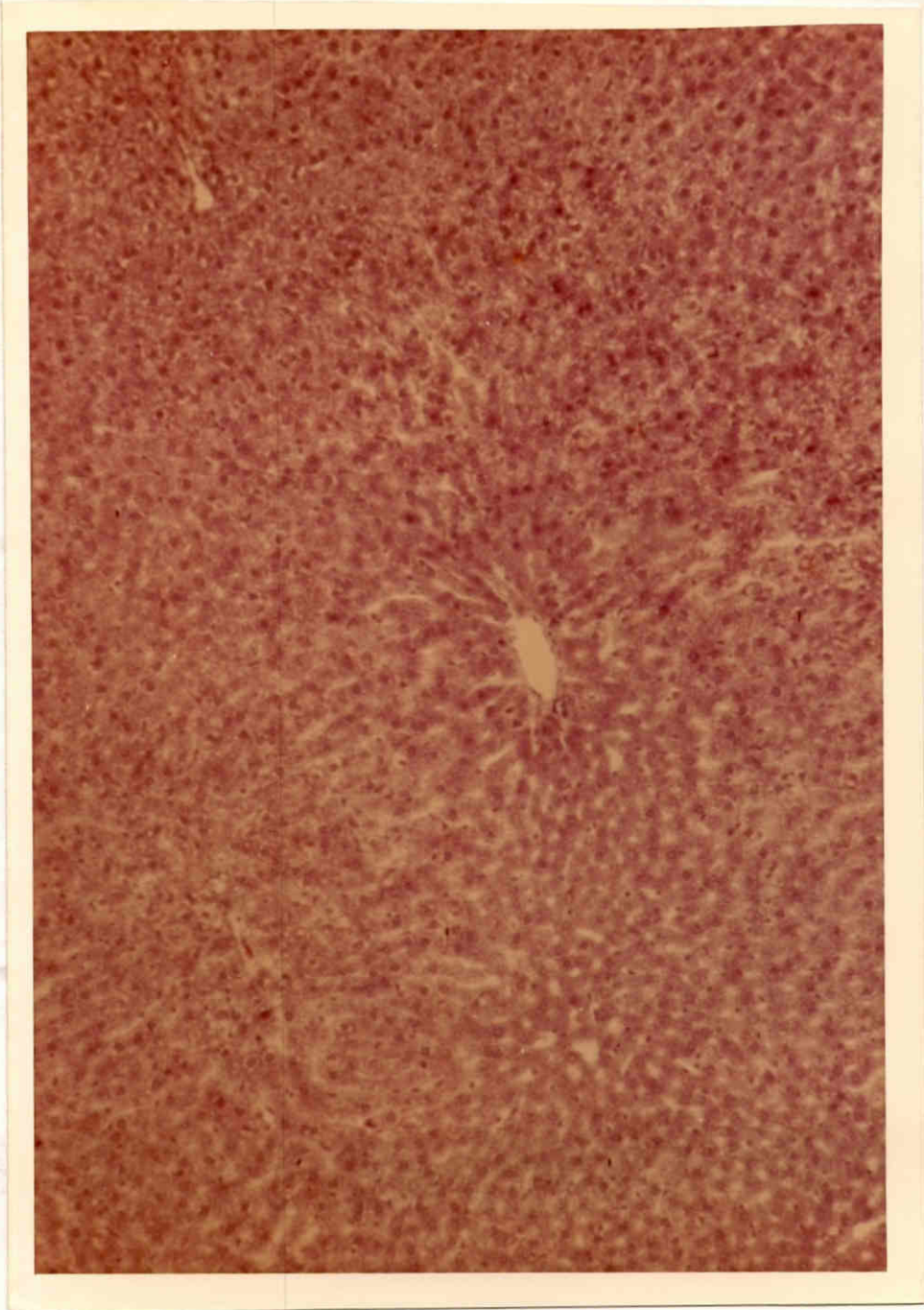
Microfotografía nº 3: Corte hepático de rata S.D. macho sometida a dieta de arroz ácido orótico durante 90 días. Hematoxilina-eosina, 400x. Cordones celulares hepáticos y células de Kupffer manifiestas.



Microfotografía nº 4: Corte hepático de rata S.D. hembra sometida a dieta de arroz ácido orótico durante 90 días. Hematoxilina-eosina, 400x. Células hepáticas normales. Células de Kupffer prominentes.

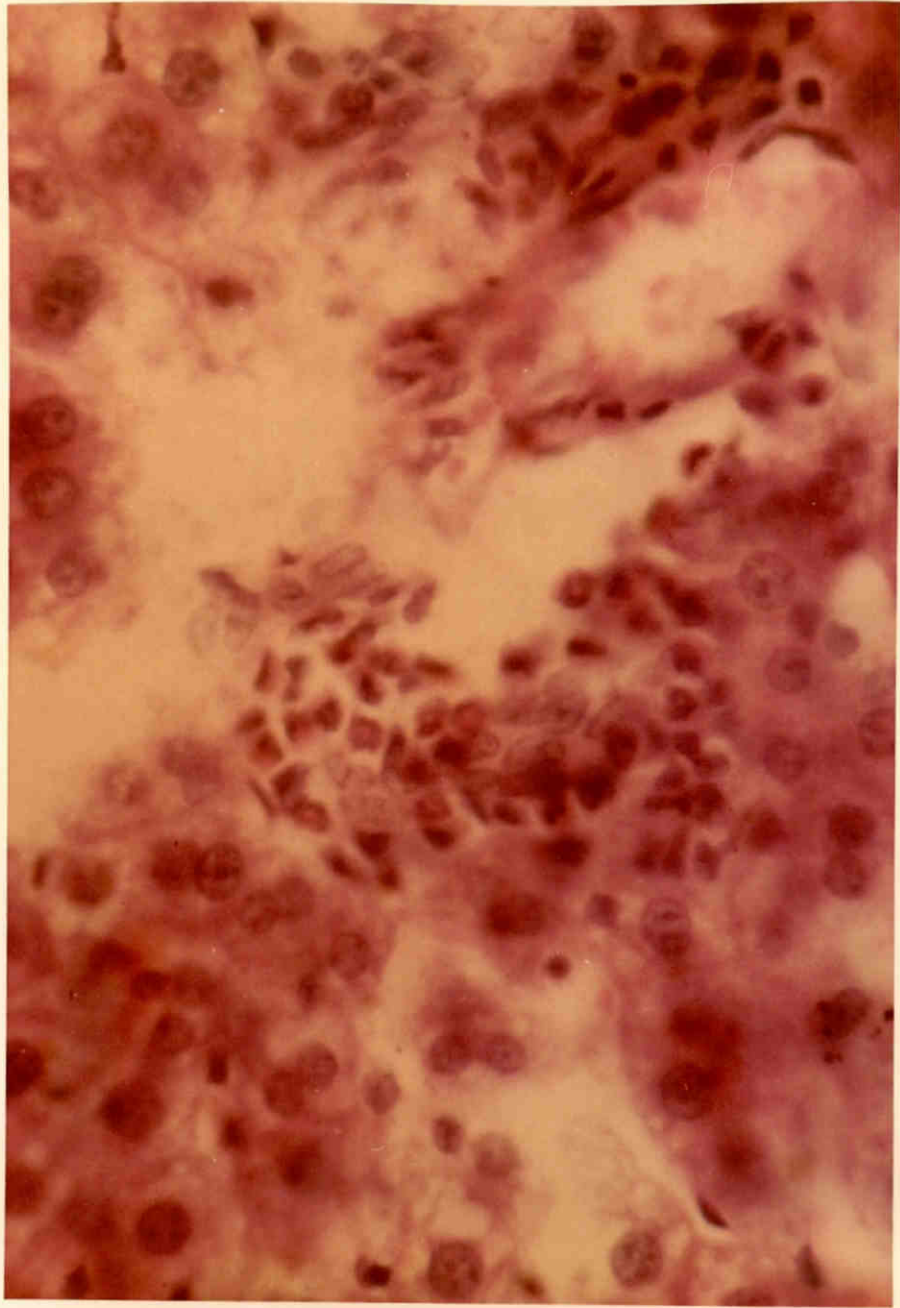


Microfotografía nº 5: Corte hepático de rata S.D. hembra sometida a dieta de arroz sili marina durante 60 días. Hematoxilina-eosina 63x. Fibrosis muy discreta.

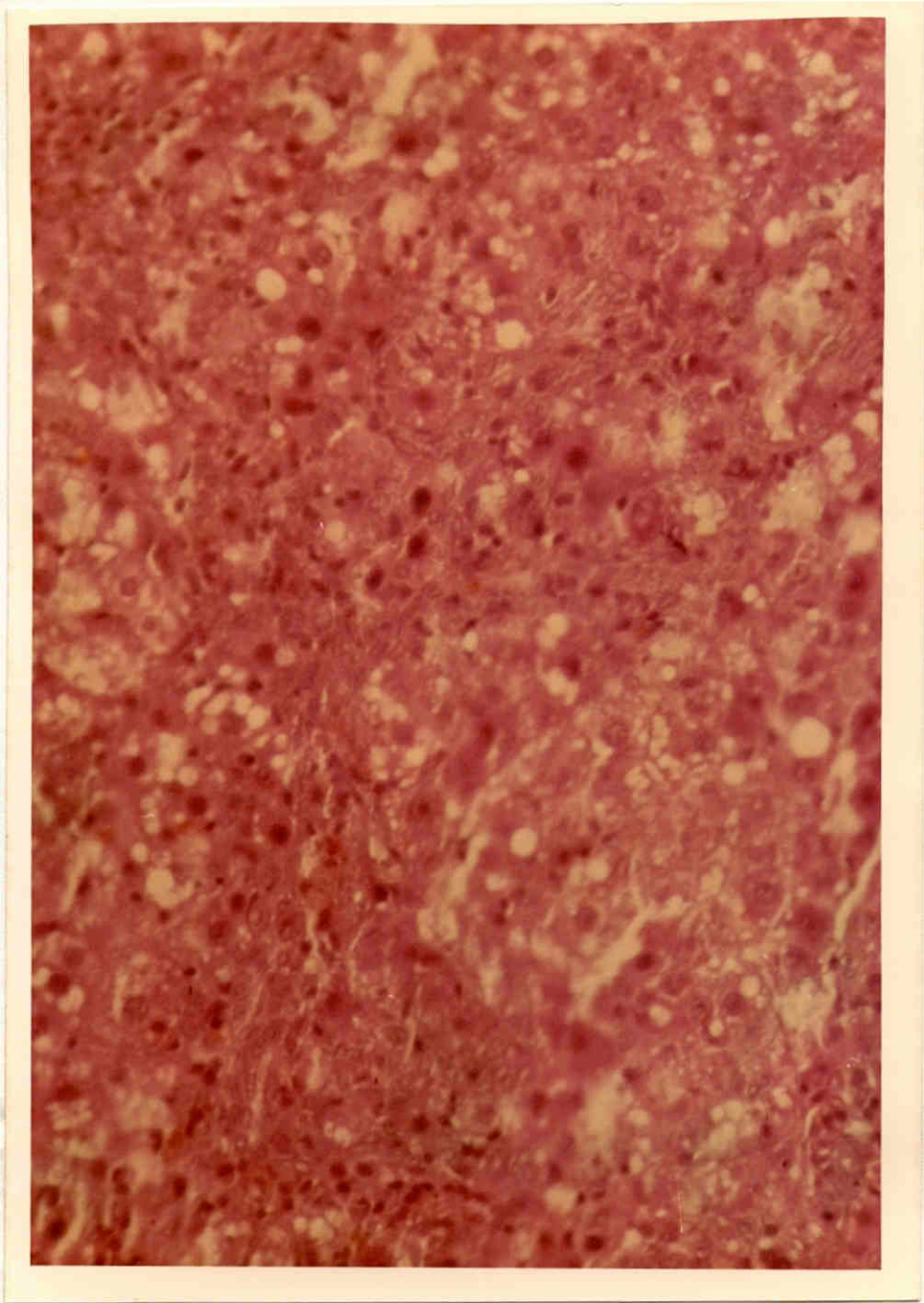


Microfotografía nº 6: Corte hepático de rata S.D. macho sometida a dieta de arroz silimarina durante 90 días. Hematoxilina-eosina 63x. Vena central. Parénquima normal.

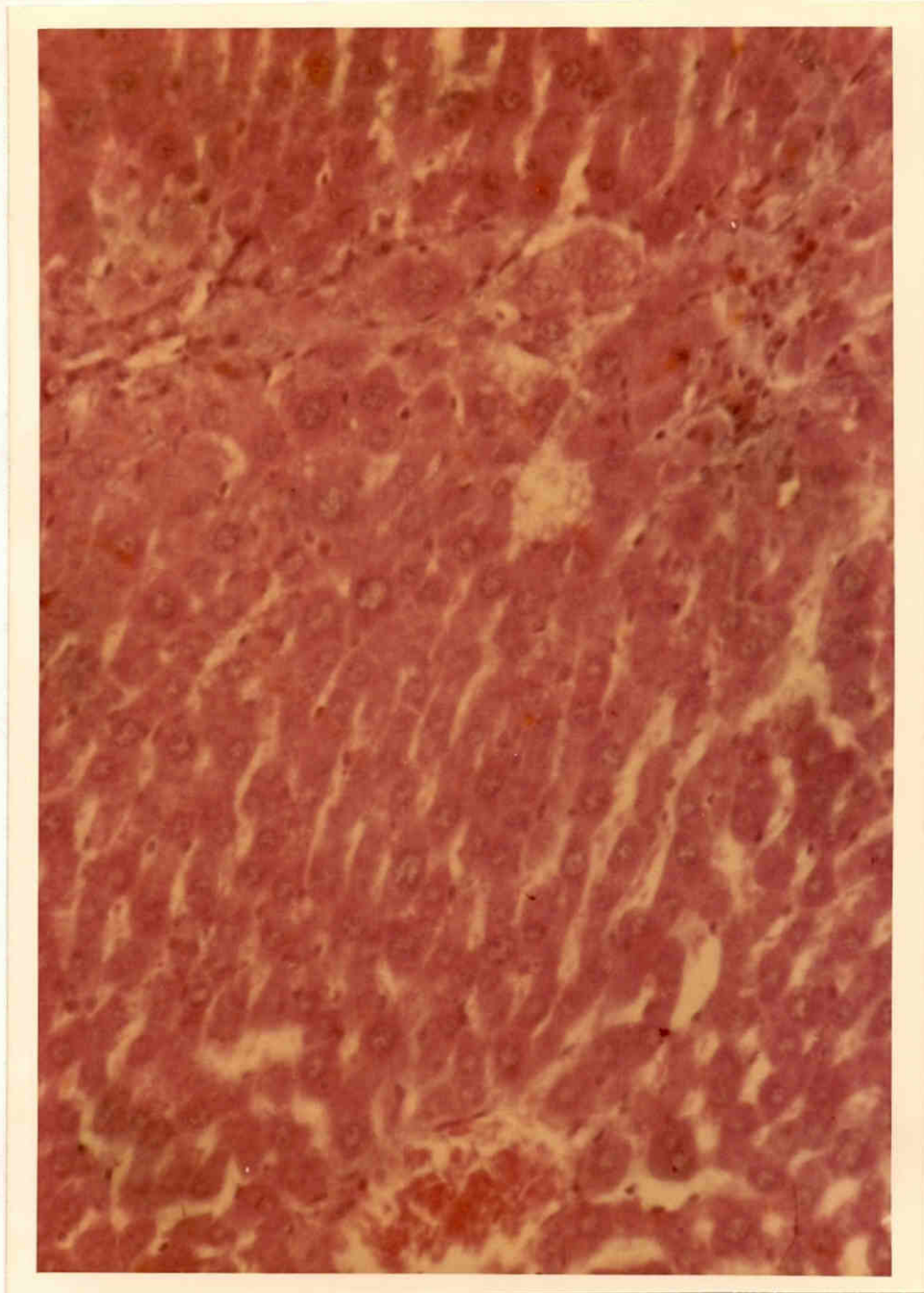




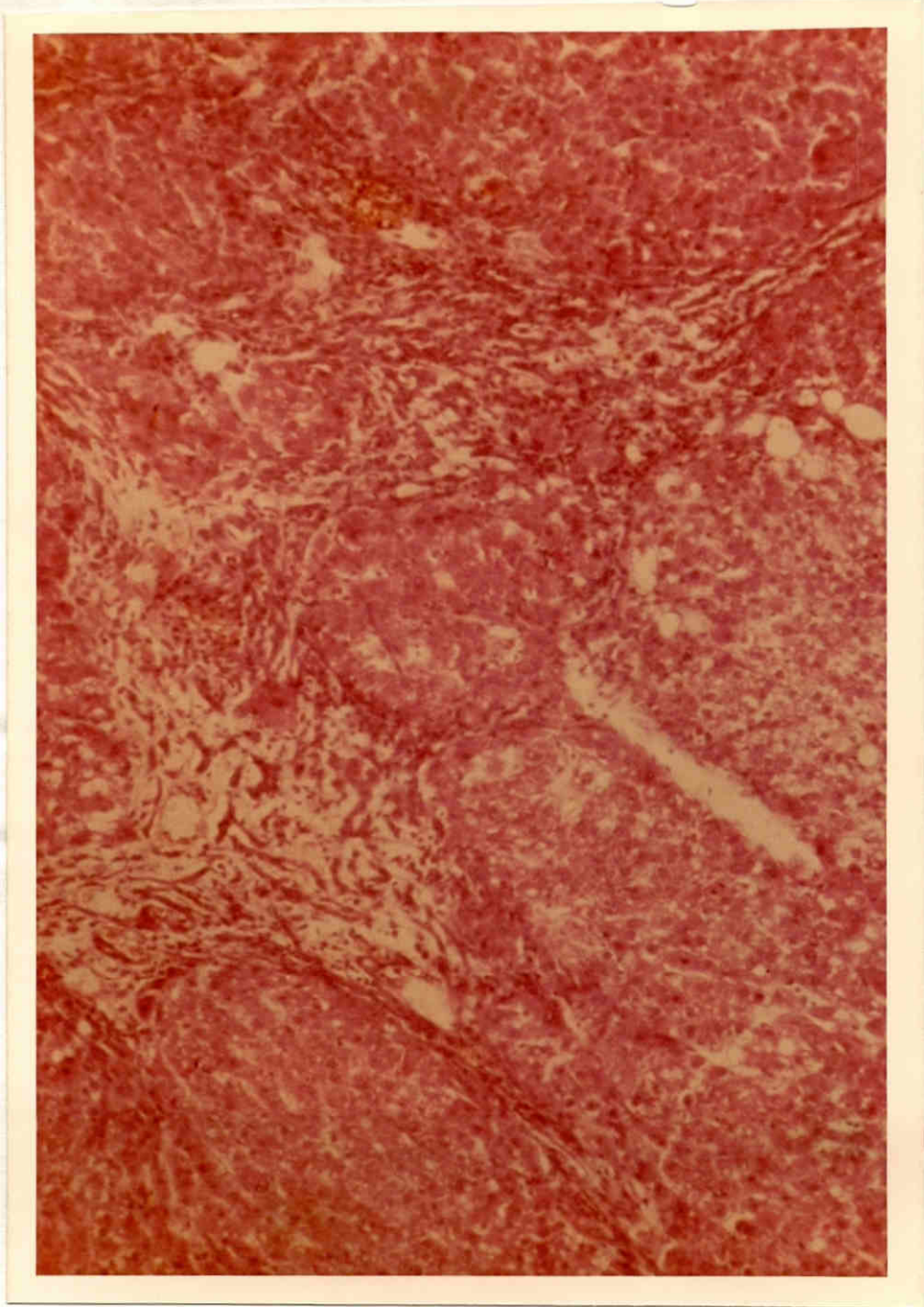
Microfotografía nº 7: Corte hepático de rata S.D. hembra sometida a dieta de arroz sili marina durante 90 días. Hematoxilina-eosina 400x. Infiltrado por linfocitos polimorfos nucleares. Espacios porta.



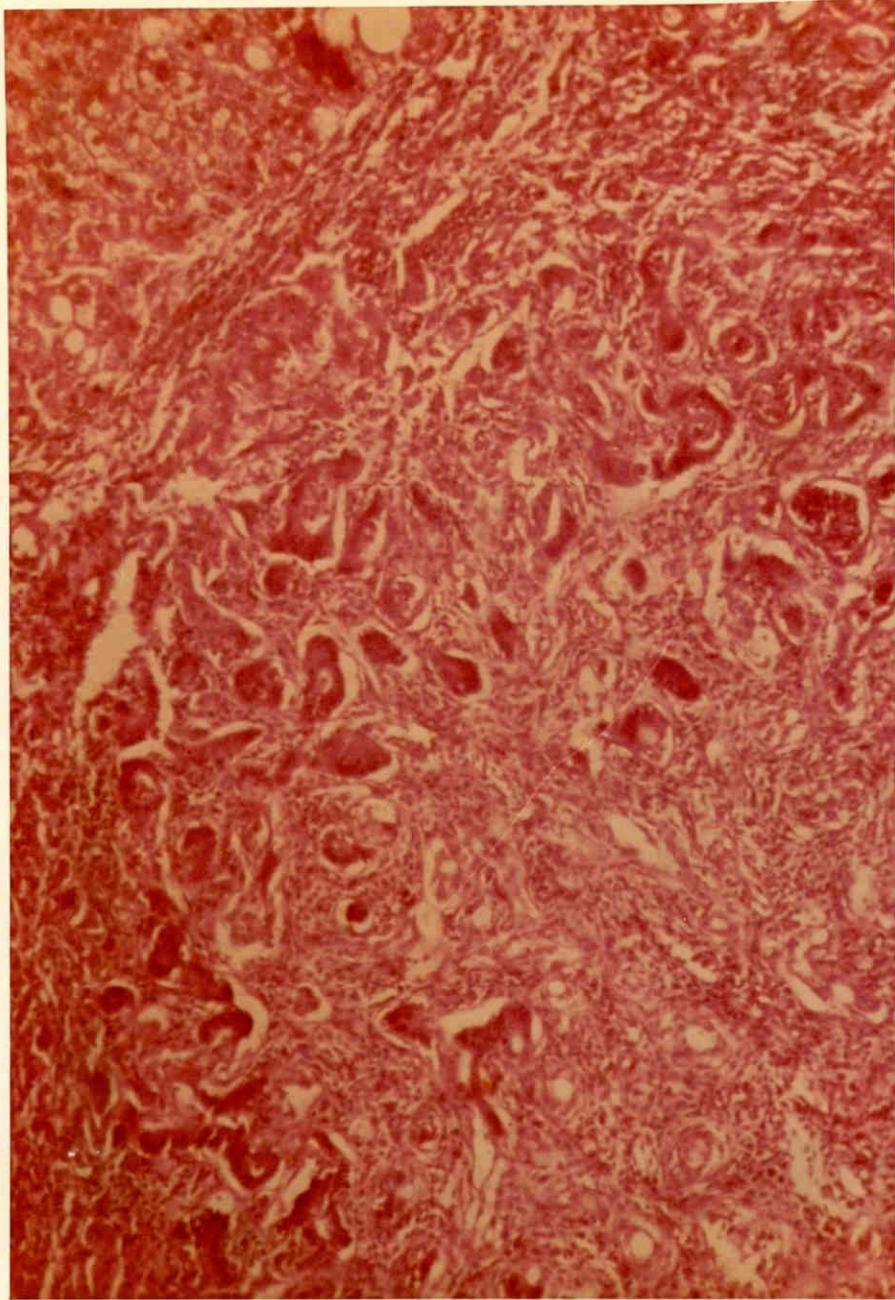
Microfotografía nº 8: Corte hepático de rata S.D. macho sometida a dieta de arroz "butter yellow" durante 60 días. Hematoxilina-eosina 160x. Degeneración grasa. Fibrosis. Hiperchromasia de algunos núcleos.



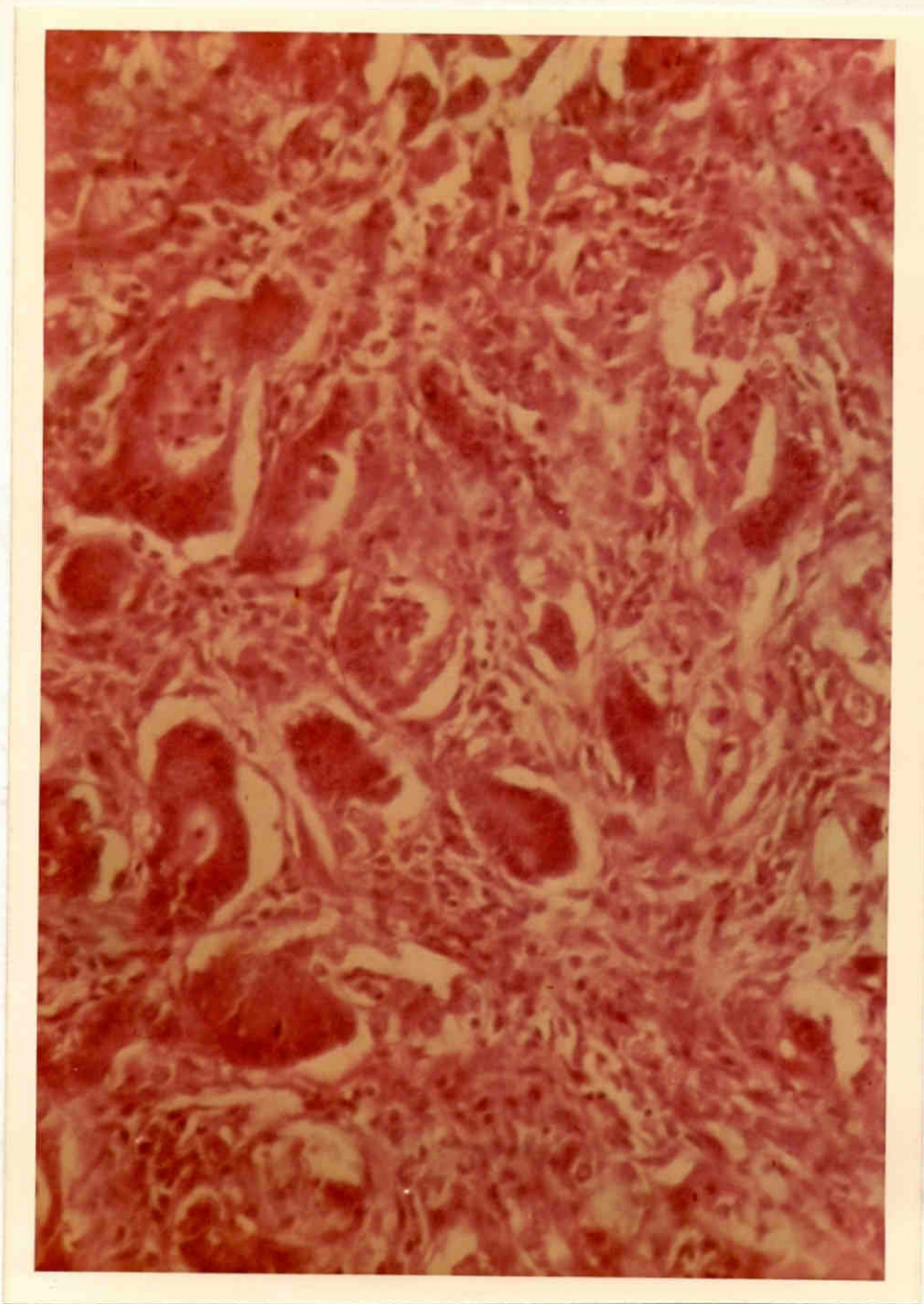
Microfotografía nº 9: Corte hepático de rata S.D. hembra sometida a dieta de arroz "butter yellow" durante 60 días. Hematoxilina-eosina 160x. Vena central y dos espacios porta unidos por discreta área de fibrosis.



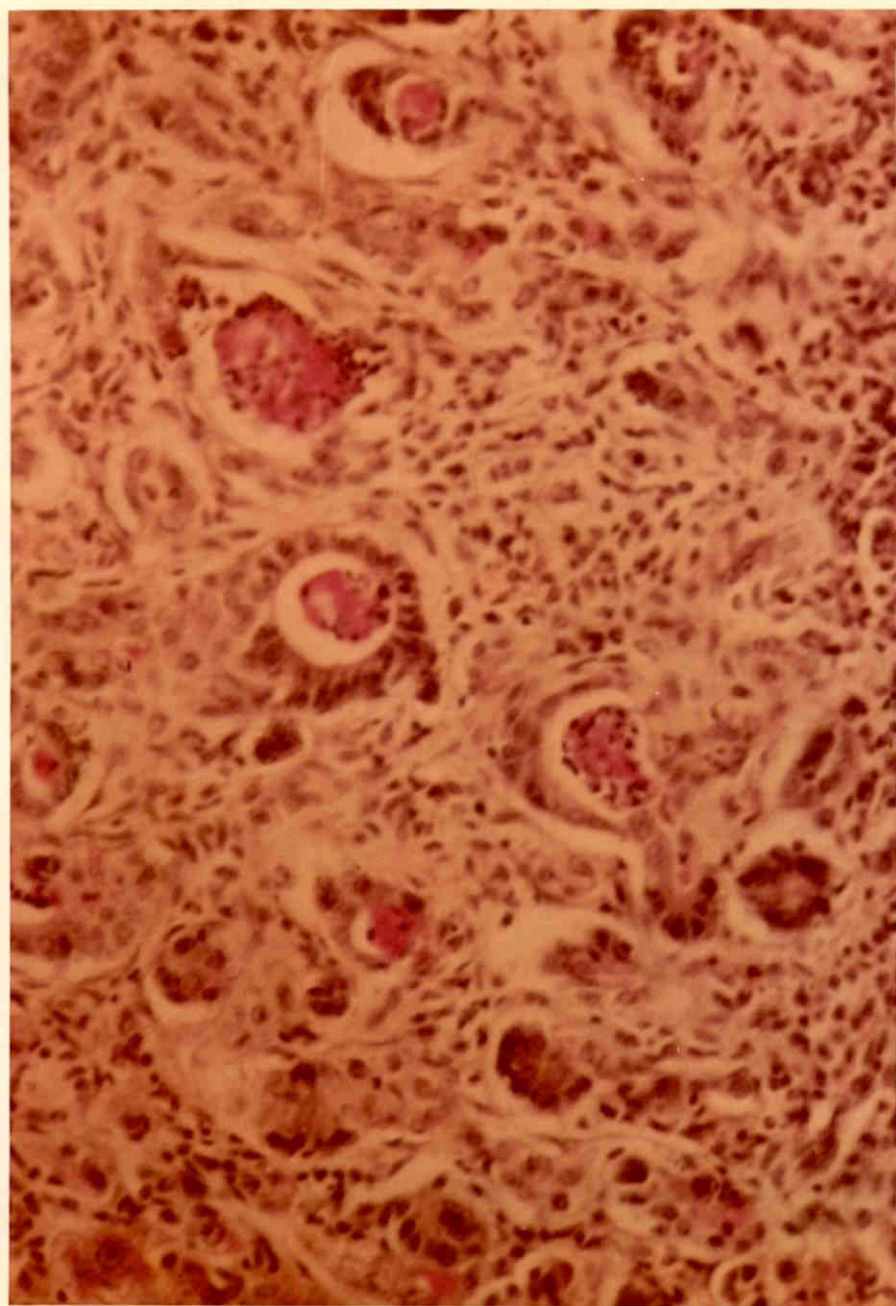
Microfotografía nº 10: Corte hepático de rata S.D. macho sometida a dieta de arroz "butter yellow" durante 90 días. Hematoxilina-eosina 63x. Nódulo cirrótico, proliferación de conductillos biliares, áreas con degeneración grasa.



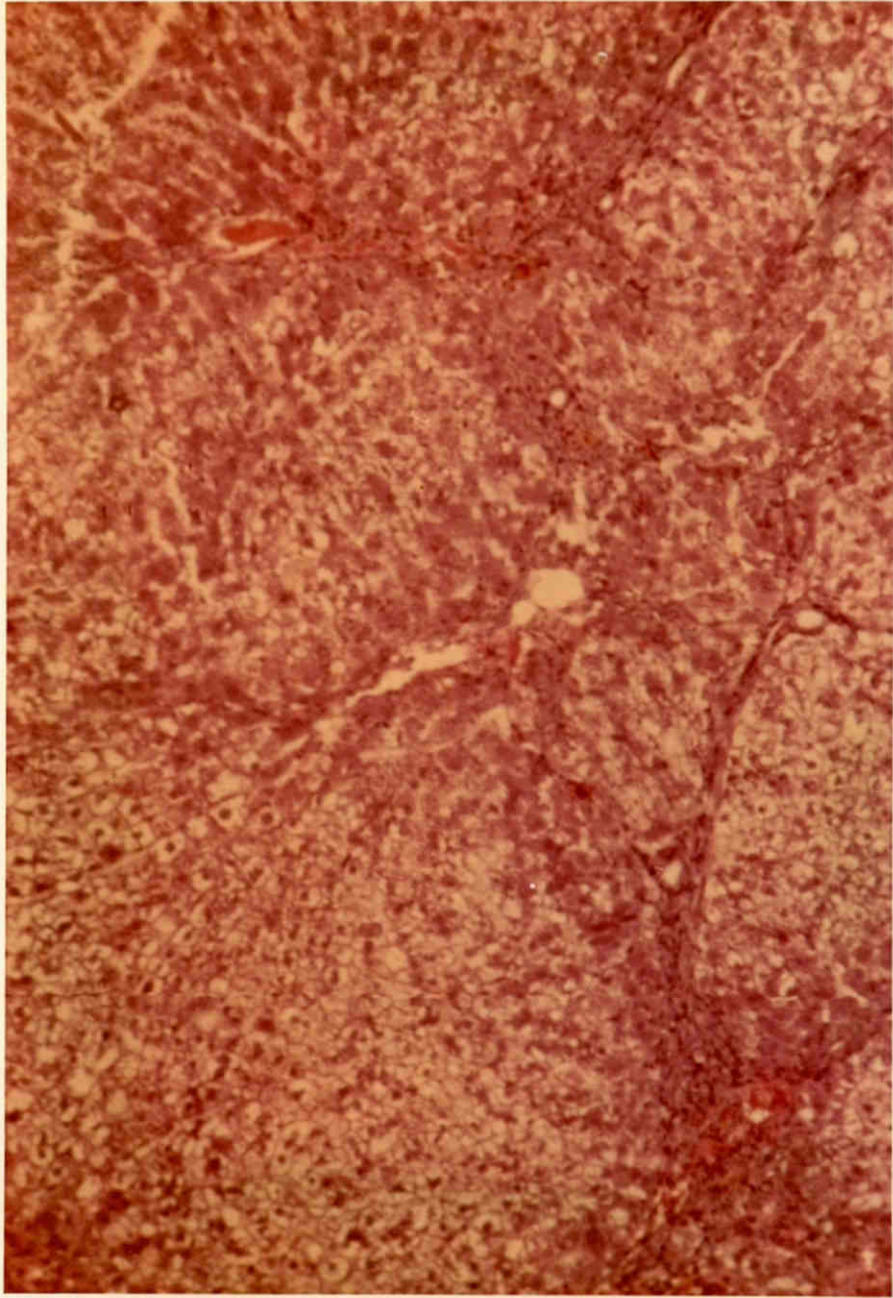
Microfotografía nº 11: Corte hepático de rata S.D. hembra sometida a dieta de arroz "butter yellow" durante 90 días. Hematoxilina - eosina 63x. Colangiocarcinoma. Nódulo cirrótico en la parte inferior.



Microfotografía nº 12: Misma pieza de la microfotografía nº 11. Hematoxilina-eosina 160x.

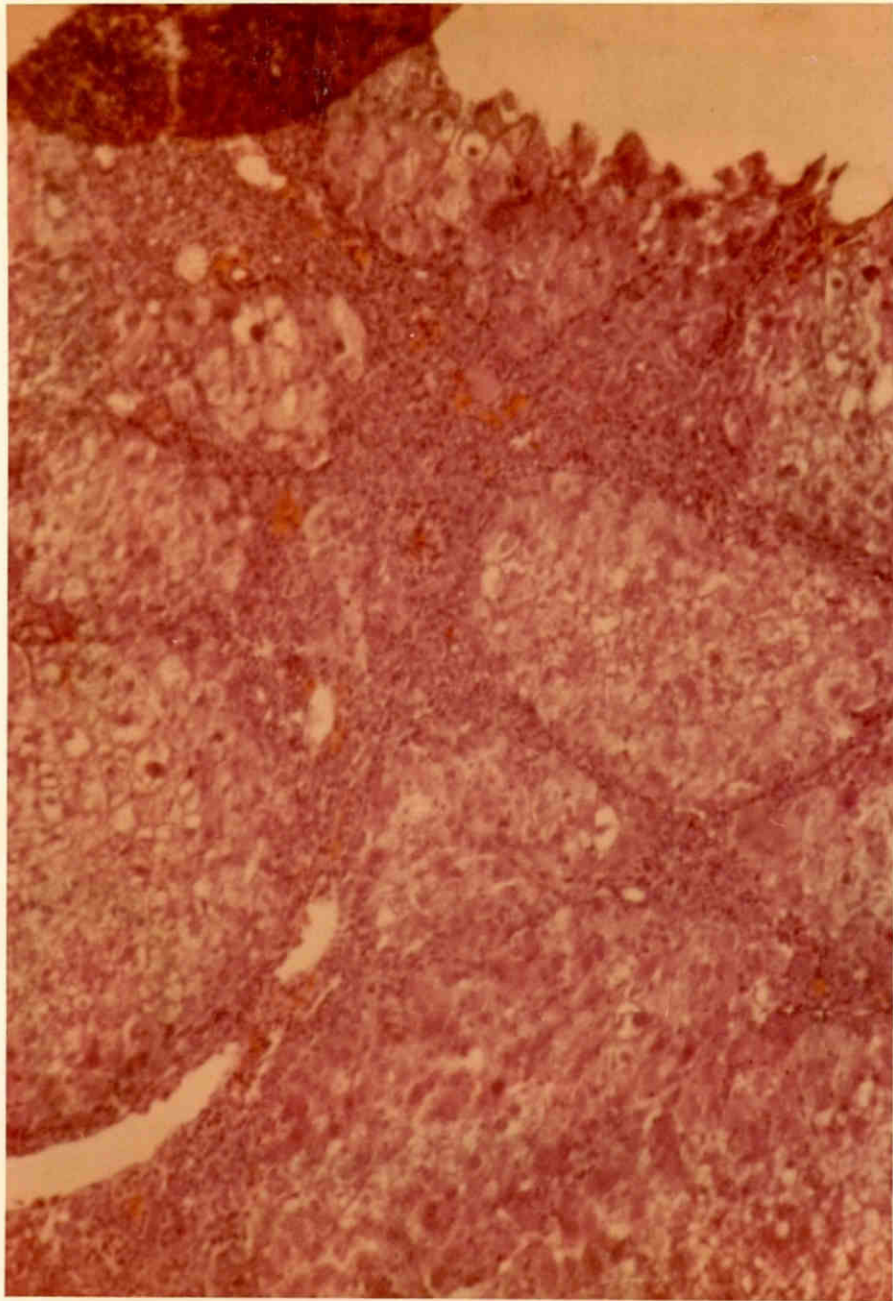


Microfotografía nº 13: Misma pieza de la microfotografía nº 11. PAS, 160x.

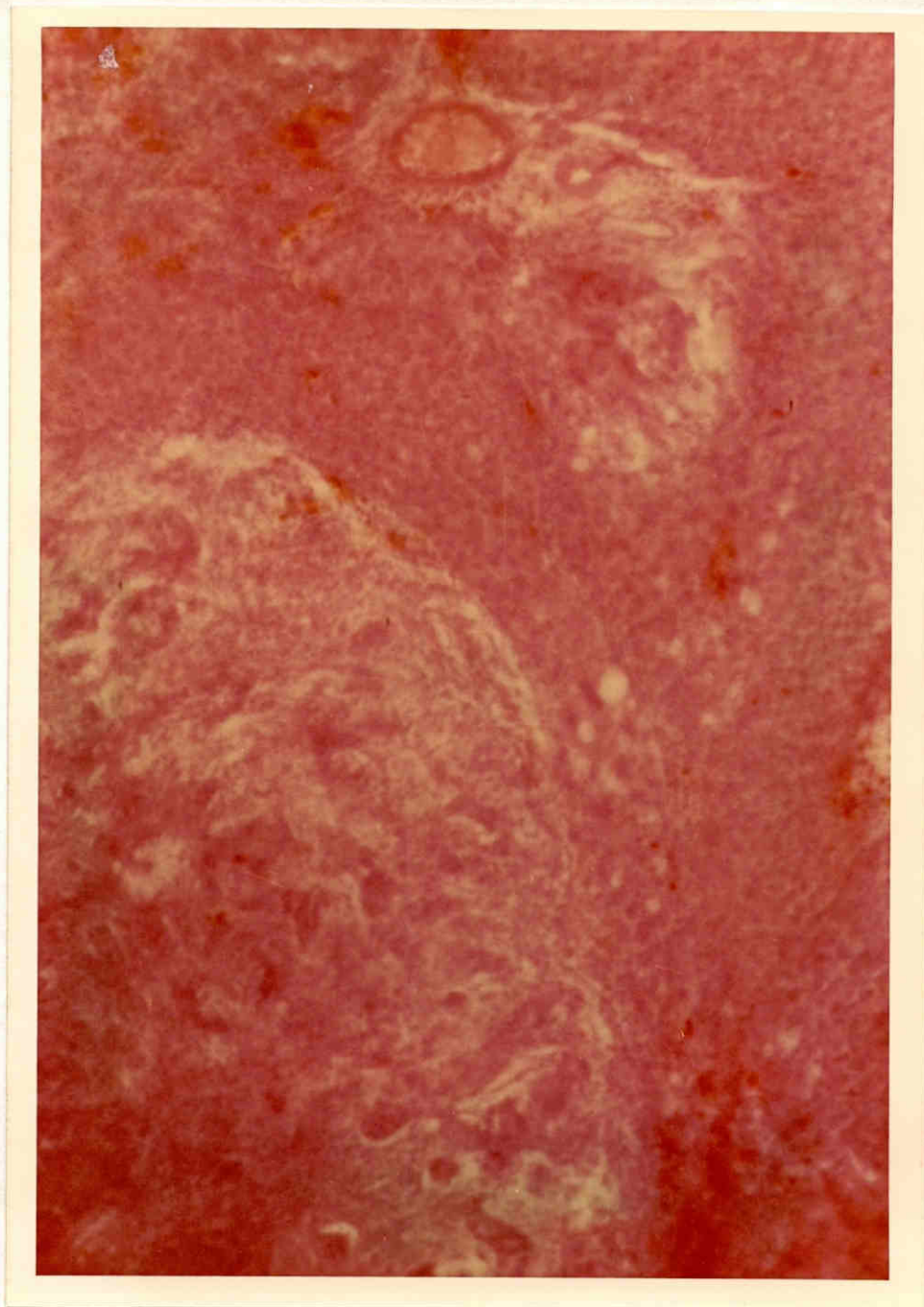


Microfotografía nº 14: Corte hepático de rata S.D. macho sometida a dieta de arroz "butter yellow" ácido orótico durante 60 días. Hematoxilina-eosina 63x. Cirrosis, congestión y degeneración grasa.

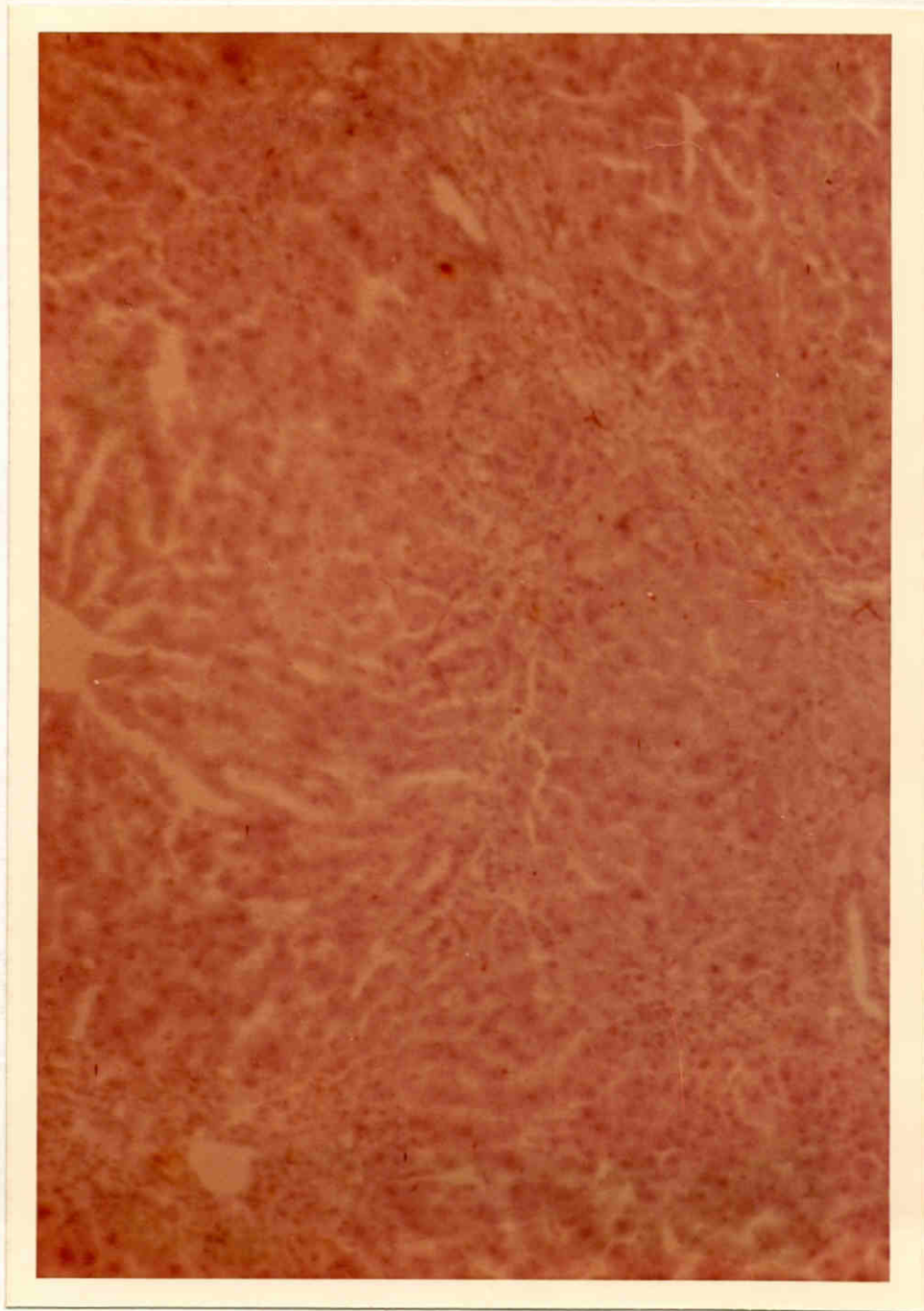




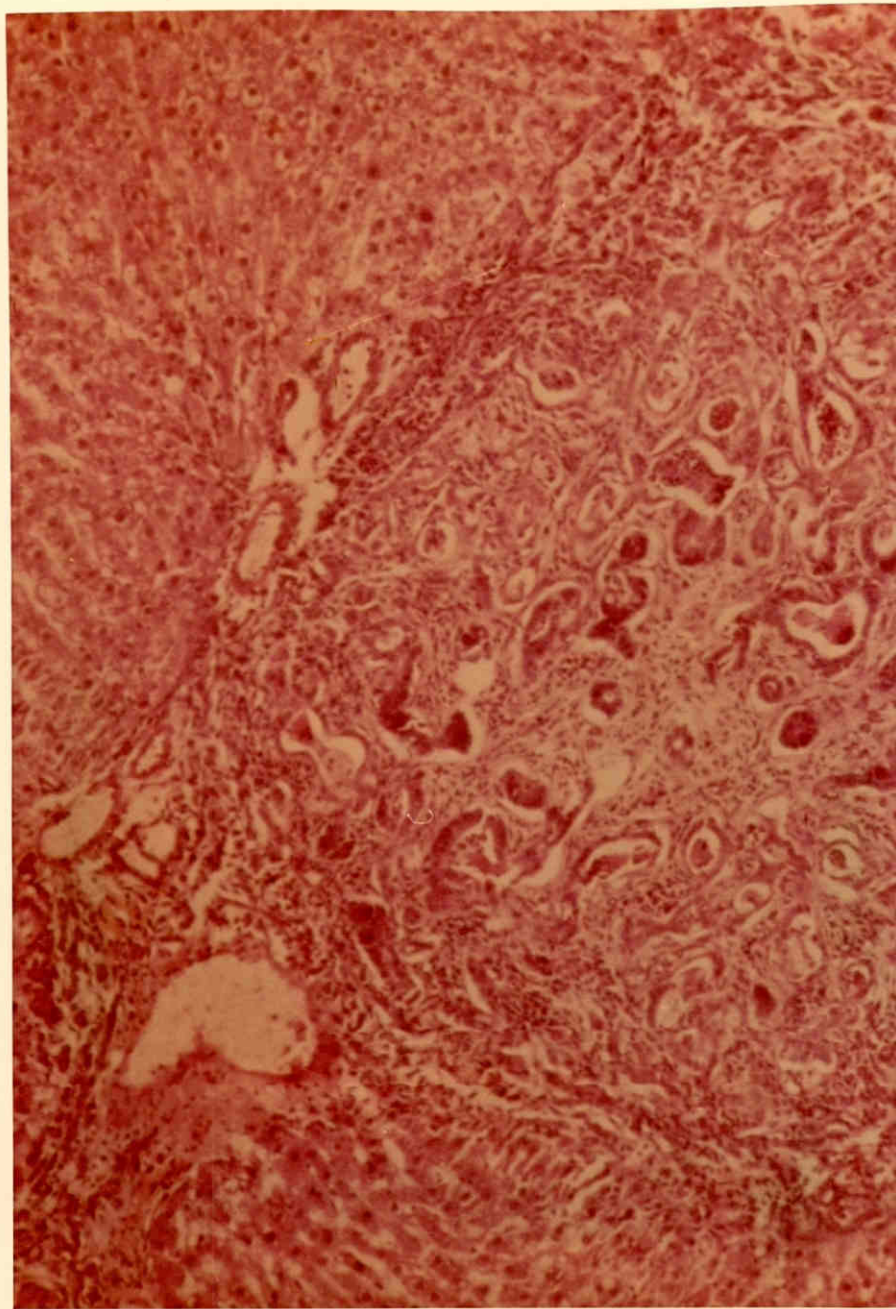
Microfotografía nº 15: Corte hepático de rata S.D. hembra, sometida a dieta de arroz "butter yellow" ácido orótico durante 60 días; Hematoxilina-eosina 63x. Cirrosis.



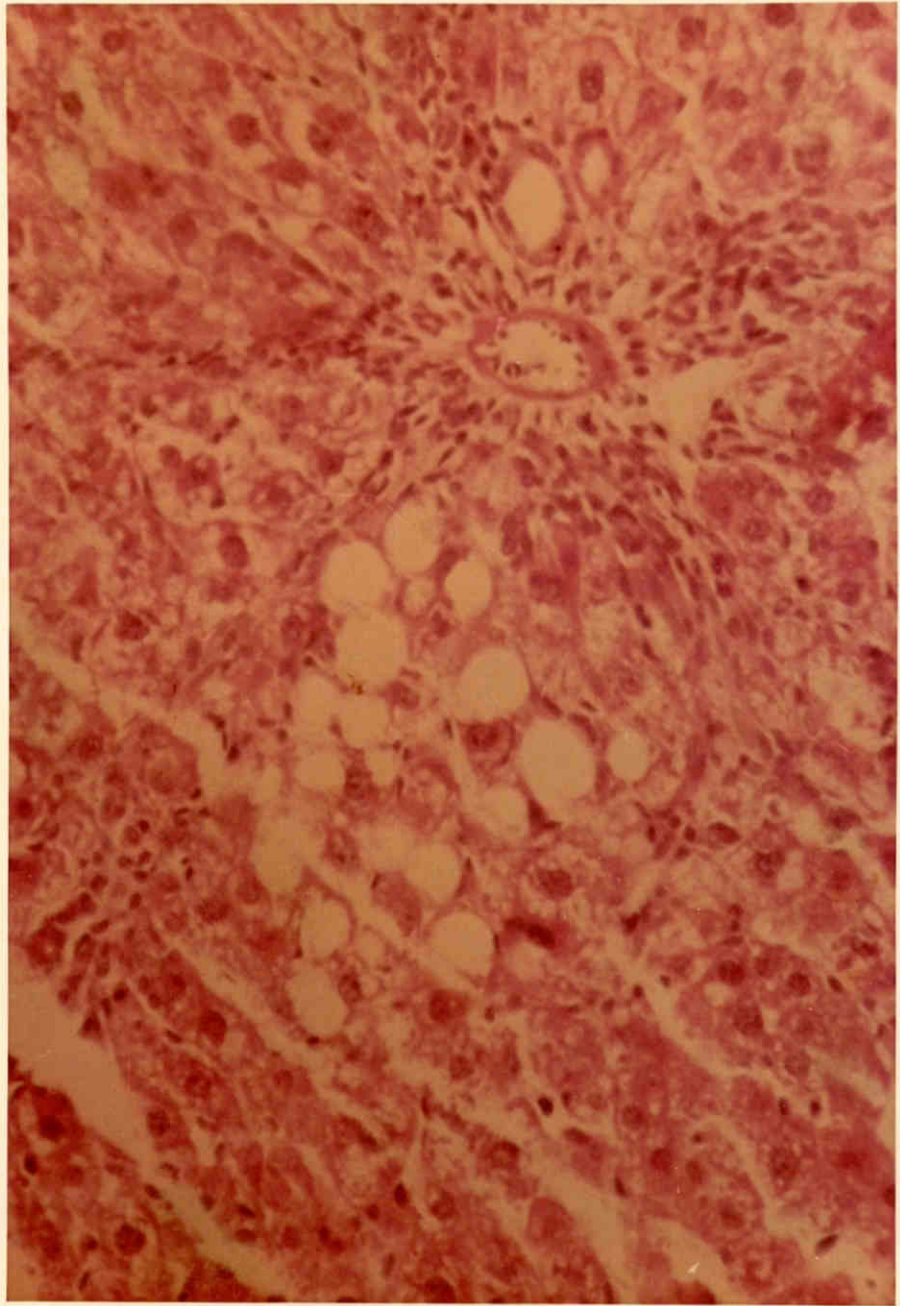
Microfotografía nº 16: Corte hepático de rata S.D. hembra sometida a dieta de arroz "butter yellow" ácido orótico, durante 90 días Hematoxilina-eosina 63x. (Corte por congelación). Colangiocarcinoma.



Microfotografía nº 17: Corte hepático de rata S.D. hembra sometida a dieta de arroz "butter yellow" silimarina, durante 60 días. Hematoxilina-eosina 63x. Tractos fibrosos que empiezan a unir los espacios porta.



Microfotografía nº 18: Corte hepático de rata  
S.D. macho, sometida a dieta de arroz "bu--  
tter yellow" silimarina durante 90 días.  
Hematoxilina-eosina 63x. Colangiocarcinoma.



Microfotografía nº 19: Corte hepático de rata S.D. hembra sometida a dieta de arroz "butter yellow" silimarina durante 90 días. Hematoxilina-eosina 160x. Espacios porta. Células hepáticas vecinas con discreta degeneración grasa.

IX. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA.

1.- AARTS, E.M.- 1968

"Evidence for the function of D-glucuronic acid as an indicator for drug-induced enhanced metabolism through the glucuronic acid pathway in man"

Biochem. Pharmacol.- 14; 269

2.- "Actualités" PHARMACOLOGIQUES

Nº 13 a 25 (1960 a 1972)

Ed. Masson (Paris)

3.- ALEMANY ONTIVEROS, JR; MONFORT ALBELDA, R; SANCHEZ DE LA CUESTA Y DE ALARCON, F y AZNAR LOPEZ, Y.- 1972

"Modificaciones inducidas por el tetracloruro de carbono en los niveles de ATP, ácido láctico y ácido pirúvico en sangre y en hígado de ratas. Influencia del tratamiento con Silimarina"

Med. Esp.- 67; 107

4.- "Archivos de Farmacología y Toxicología"

Vol. 1, nº 1, 2, y 3.- 1975

" II, nº 1, 2, y 3.- 1976

5.- ARCOS, J.C. and SIMON, J.- 1962

"Effect of 4-Substituents on the carcinogenic activity of 4-aminoazobenzene derivatives"

Arzneim. Forsch.- 12; 270

- 6.- ARVIDSON, H; ELIASSON, N.A; HAMMARSTEN, E; REICHARD, P;  
UBISCH, H and BERGSTROM, S.- 1949  
"Orotic acid as a precursor of pyrimidines in the rat"  
J. Biol. Chem. 179; 169
- 7.- AZNAR LOPEZ, J; MONFORT ALBELDA, R; ALEMANY ONTIVEROS, J.R.  
y SANCHEZ DE LA CUESTA Y DE ALARCON, F.- 1972  
"Efectos del ejercicio exhaustivo natatorio sobre la glu-  
cemia y los niveles hepáticos y sanguíneos de ATP, glucó-  
geno y ácido láctico en ratas hepatolesionadas sometidas  
a tratamiento con Silimarina"  
Med. Esp.- 68, 336
- 8.- AZNAR LOPEZ, J; SANCHEZ DE LA CUESTA, F; MONFORT ALBELDA, R.  
y ALEMANY ONTIVEROS, J.R.- 1972  
"Influencia de la lesión hepática experimental por tetraclo-  
ruro de carbono sobre la secreción ácido-péptica estimula-  
da por pentagastrina en la rata y efectos protectores de  
la silimarina"  
Med. Esp.- 68; 278
- 9.- BAL \*MAGIJA, T.A; ANTONOVA, G.A; KHODOROVA, N.A.- 1978  
("Mechanisms of the effect of orotic acid on the growth and  
development of young rats"  
Bull Eksp Biol Med. 79, 3; 18



10.- BARTSCH, G. G and GERBER, G.B.- 1975

"Influence of phospholipids on liver damage.II. Changes in lipid content and synthesis after liver damage with carbon tetrachloride and other agents"

Acta Hepatogastroenterol., 22, 4; 228

11.- BEAUCHANT, J; BREUIL, J; BLAVONDUCHESE, N et LANSMANN, M.- 1972

"Interet d'une nouvelle moleculle dans hepatologie"

L'Quest Medical.- 19; 191

12.- BERAUD, C.- 1976

"Citado por J. Dalmou en "Aspectos socioeconómicos de las enf. del hígado".

Jeno.- 232; 60

13.- BERNARD, C.- 1976

"Introducción al estudio de la Medicina experimental"

Ed. Fontanella.- Barcelona.

14.- BIERI, J.G and EVARTS, R.P.- 1975

"Effect of plasma lipid levels and obesity on tissue stores of alpha-tocopherol"

Proc Soc Exp Biol Med., 149, 2; 500

15.- BOCK, K.W; MATERN, S and FROHLING, W.- 1972

"Drug metabolism and protein synthesis in isolated perfused rat liver"

Naun. Schmied. Arch. Pharm., Supp. 274, R-19

16.- BOYER, J.L.- 1974

"Cirrosis", 419/429, en Terapèutica 1974 (CONN)

Edit. Salvat (Barcelona)

17.- BRECKENRIDGE, B.B and ORME, M.- 1971

"Clinical implications of enzyme induction"

Ann. N.Y. Acad. Sci.- 179: 421

18.- "British Journal of Pharmacology"

Vol. 46, n° 1, 2, 3, 4.- 1972

Vol. 46, n° 1, 2, 3, 4.- 1972

Vol. 47, n° 1, 2, 3, 4.- 1973

Vol. 48, n° 1, 2, 3, 4.- 1973

Vol. 49, n° 1, 2, 3, 4.- 1973

19.- BROWN, E.V. and HANDAN, A.A.- 1966

"Carcinogenic activity of analogues of p-dimethylemincazo-  
benzene. V. Effect of added Methyl groups in the pyridine  
series.

J. Nat. Cancer Inst.- 37: 365

20.- BRUHL, W.- 1970

"Leber und Gallenwegserkrankungen"

Ed. G. Thieme, Stuttgart

- 21.- BRUNNER, G; VIDO, I; PERINGS, E and GRUNEWALDER, N.- 1971  
"Investigation on the effect of azathioprine, choline orotate and phenobarbital upon enzymes of endoplasmic reticulum and mitochondria in rat Liver"  
Naun. Schmied. Arch. Pharm., 274; 328
- 22.- BURATEIN, S and KLAIBER, E.L.- 1966  
"Phenobarbital-induced increase in 6-hydroxycortisol excretion; clue to its significance in human urine"  
J. Clin. Endocrin. Met.- 25; 293
- 23.- CAROLI, H.- 1964  
Citado por Lorenzo Velázquez (81)
- 24.- CONNEY, A.H; JACOBSON, M; SCHEIDMAN, K and KUNTZMAN, R.- 1965  
"Induction of liver microsomal cortisol 6- $\beta$ -hydroxylase by diphenylhydantoin or phenobarbital: An explanation for the increased excretion of 6-hydroxycortisol in human treated with Sci.- 4; 1091
- 25.- CUTILLO, S; MELONI, T e DORE, A.- 1972  
"Effetto dell'acido orotico sulla bilirrubinemia del neonato a termine ed immaturo. Valutazione comparativa rispetto ai barbiturici"  
Pediatría, 80; 217

26.- DELBARRE, F et AUSCHER,- 1963

"Traitement de la goutte par l'acide uracil-5-carboxylique  
et ses dérivés"

Press. Med., 71: 1765

27.- DEO, M.G and RAMALINSWAMI, V.- 1960

"Production of periportal fatty indiltration of the liver in  
the rhesus monkey by a protein-deficient diet"

Lab. Invest.- 9: 319

28.- DRILL, V.A.- 1960

"Farmecologia médica"

La Prensa Médica Mexicana (Méjico)

29.- DUDNIKOVA, G.N; RYVNIAC, V.V.- 1976

("An autoradiographic and electron microscopic study of fi-  
broblast under conditions of stimulation of the wound pro-  
cess")

Arkh Patol., 38, 4: 13

30.- DUDNIKOVA, G.N; BATSURA, I.D; PAL\*TSYN, A.A.- 1975

("Stimulation of fibrillogenesis in granulation tissue")

Biull Eksp Biol Med., 30, 12: 96

31.- DU PLOOY, M and DIJKSTRA, J.- 1971

"Early stage in the metabolism of aminoazo dyes in the liver  
of rats"

Chem. Biol. Interactions.- 4: 163

32.- "Editorial".- 1953

"The carcinogenic aminoazodyes"

Advan. Cancer Res.- 1: 339

33.- EGGSTEIN, M.- 1966

"Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutsarum und Gewebe II Zuerlässigkeit der Methode, andere Neutralfettbestimmungen, Normalwerte für Triglyceride und Glycerin im Menschlichen Blut"

Clin. Wochr. 44: 267

34.- ESCARTIN MARIN, P y ROSSI, I.- 1975

"Inducción enzimática en enfermos cirróticos"

Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.- XLV: 605

35.- ESCARTIN MARIN, P; ROSSI, I y ARENAS MIRAVE, I.- 1976

"Enzimoinducción en cirrosis alcohólicas y criptogenéticas"

Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.- XLVII: 329

36.- EULER von, LEO H.; RUBIN, ROBERT J. and HANDSCHUMACHER, R.E.  
1963

"Fatty Livers induced by Orotic Acid, II. Changes in Nucleotide metabolism"

Jour. Biol. Chem.- 238, 7: 2464

37.- "European Journal of pharmacology"

Vol. 13, n° 1, 2, 3.- 1971

Vol. 14, n° 1, 2, 3.- 1971

Vol. 15, n° 1, 2, 3.- 1971

Vol. 16, n° 1, 2, 3.- 1971

Vol. 17, n° 1, 2, 3.- 1972

Vol. 18, n° 1, 2, 3.- 1972

Vol. 19, n° 1, 2, 3.- 1972

Vol. 20, n° 1, 2, 3.- 1972

Vol. 21, n° 1, 2, 3.- 1973

Vol. 22, n° 1, 2, 3.- 1973

Vol. 23, n° 1, 2, 3.- 1973

Vol. 24, n° 1, 2, 3.- 1973

38.- EZER, E and SZPORNY, L.- 1976

"Tape test a simple new method for the study of compounds  
increase the problem-solving ability of the rat"

Psychopharmacology, 48, 1: 97

39.- FAHIM, M.S; HALL, D.G and FAHIM, Z.- 1969

"Urinary D-glucuronic acid. An index of hepatic microsomal en-  
zyme activity in human females"

Ann. J. Obst. Gynecol.- 106: 124

40.- FAUSTO, N; BRANDT, J.T and KESNER, L.- 1975

"Possible interactions between the urea cycle and synthesis  
of pyrimidines and polyamines in regenerating liver"

Cancer Res 35, 2: 397

41.- FEKETE, I and TÓTH, G.- 1976

"Effect of orotic acid on liver glycogen of different animal species"

Experientia, 33, 3; 332

42.- FOUTS, J.R. and ROGERS, L.A.- 1965

"Morphological changes in the accompanying stimulation of microsomal drug-metabolizing enzyme activity by phenobarbital, chlordane, benzpyrene or methycolantrene in rats"

J. Pharm. Exp. Ther.- 147; 112

43.- FURUND, K; SHIMAKAWA, K and SUZOUKI, Z.- 1976

"Effects of nutritional factors on the development of ethanol-induced fatty liver in KK and KK-Ay mice"

J Nutr., 105, 10; 1263

44.- GALAMBOS, J.T.- 1976

"Hepatitis viral aguda", 511/515 en Terapèutica 1976 (CONN)

Edit. Salvat (Barcelona)

45.- GALAMBOS, J.L.- 1972

"Cirrosis", 402/409 en Terapèutica 1972 (CONN)

Edit. Salvat (Barcelona)

46.- GARCIA BLANCO, J.- 1961

"Composició química de los alimentos", Cap. II del libro Química Fisiológica"

Ed. Saber.- Valencia (España)

- 47.- GEORGEES, A; GERIN, Y; DENEZ, J et HENKER, H.- 1970  
"Valeur pronostique des test de dépistage d'hépatotoxicité  
chez le rat"  
Proc. Eur. Soc. Study Drug Toxicity.- 11: 182
- 48.- GILLETE, J.R.- 1966  
"Biochemistry of drug oxidation and reduction of enzyme in  
hepatic endoplasmic reticulum"  
Adv. Pharmacol.- 4: 219
- 49.- GIMENEZ ABADIA, M.A y MARSET CAMPOS, P.- 1975  
"Análisis de las publicaciones periódicas médicas sobre Pa-  
tología digestiva para el período 1965-1971, según el In-  
dice Médico Español".  
Rev. Esp. Enf. Ap Digest.- XLVI: 203
- 50.- GOMEZ, F; GALWAN, R.R; CRAVIOTO, J and FRENKS, S.- 1956  
"Malnutrition in infancy and childhood, with special refe-  
rence to Kwashiorkor", in Advances in Pediatrics, Vol VII,  
pág. 131  
Year Book Medical Publishers, Inc.- Chicago
- 51.- GOMEZ PUCH; GUILLEN MARTINEZ; MUÑOZ FERNANDEZ; NAVARRO VEGA  
Y RIOS SOLANS.- 1972  
"Terapéutica actual de las enfermedades hepáticas"  
Medicamenta.- LX, 504: 267



- 52.- GONZALEZ MACIAS, J y CASTRO DEL POZO, S.- 1974  
"Hepatopatías y drogas"  
Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.- XLIV: 175
- 53.- GODMAN, L.S and GILLMAN, A.- 1974  
"Bases farmacológicas de la Terapéutica", 4ª Edición  
Editorial Interamericana (Méjico)
- 54.- GOTH, A.- 1975  
"Farmacología Médica", 7ª Edición  
Ed. Interamericana (Méjico)
- 55.- GROZDANOVIĆ, J and HRADEC, J.- 1975  
"Different binding of poly (A)-containing and poly (A)  
-free fractions of nuclear ribonucleic acid to ribosomes  
from rat liver"  
Biochim Biophys Acta, 402, 1: 69
- 56.- HAHN, G; LEHMANN, H.D; KURTEN, M; UEBEL, H und VOGEL, G.-  
1968  
"Zur pharmakologie und Toxikologie von Silymerin des anti-  
hepatotoxischen wirkprinzips aus Silybum marianum (L.)  
Gaertn"  
Arzneim. Forsch., 18: 698
- 57.- HALBACH, G. und WINKLER, W.- 1971  
"Flavonoide Inhaltstoffe in den Früchten von Silybum abur-  
neum"

Zeits Naturforsch; 26b; 971

58.- HALBACH, G. und BORLER, K.- 1971

"Zur trennung der in den fruchten der mariendistel (*Silybum marianum*) en thant enen flavonoiden inhaltsstoffe"

Planta Médica, 19, 4; 293

59.- HALBACH, V.G. und TROST, W.- 1974

"Zur Chemie und Pharmakologie des Silymarins. Untersuchungen an einigen Umsetzungsprodukten des Silybins

Arzneim. Forsch.- 24, 5; 886

60.- HORBACH, I.- 1967

"Steigerung des Aussagewertes therapeutischer Vergleichsergebnissen durch strukturelle Schichtung"

Ed. Habilitationsschrift (Mainz)

61.- HUNTER, J; MAXWELL, J.D; CARRELLA, M; STEWART, D.A. and WILLIAMS, R.- 1971

"Urinary D-glucuronic acid excretion as a test for hepatic enzyme induction in man"

Lancet.- 1; 572

62.- ISHIDATE, M. and HASHIMOTO, Y.- 1969

"The metabolism of p-dimethylaminoazobenzene and related compounds. I.

Metabolites of p-dimethylaminoazobenzene in dog urine"

Chem. Phar., Bull.- 7; 108

63.- "The Japanese of Pharmacology"

Vol. 21, nº 1, 2, 3, 4, 5 y 6.- 1971

Vol. 22, nº 1, 2, 3, 4, 5 y 6.- 1972

64.- JONES, D.P.- 1973

"Cirrosis", 401/406 en Terapéutica 1973 (CONN)

Edit. Salvat (Barcelona)

65.- "The Journal of Pharmacology and experimental therapeutics"

Vol. 176, nº 1, 2, 3.- 1971

Vol. 177, nº 1, 2, 3.- 1971

Vol. 178, nº 1, 2, 3.- 1971

Vol. 179, nº 1, 2, 3.- 1971

Vol. 180, nº 1, 2, 3.- 1972

Vol. 181, nº 1, 2, 3.- 1972

Vol. 182, nº 1, 2, 3.- 1972

Vol. 183, nº 1, 2, 3.- 1972

Vol. 184, nº 1, 2, 3.- 1973

Vol. 185, nº 1, 2, 3.- 1973

Vol. 186, nº 1, 2, 3.- 1973

Vol. 187, nº 1, 2, 3.- 1973

66.- KEPLER, D; RUDIGIER, J; REUTTER, W; LESCH, A and DECKER, K.-  
1970

"Urotate prevents galactosamine Hepatitis"

Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 351, 5: 102

- 67.- KINOSITA, R.- 1937  
"Studies on the cancerogenic chemical substances"  
Tr. Soc. path. Jap., 27: 666
- 68.- KINOSITA, R.- 1939  
"On the substance to effect the experimental cancerogenesis"  
Gann., 33: 225
- 69.- KINOSITA, R.- 1940  
"Studies on the cancerogenic azo and related compounds"  
Yale J. Biol. Med., 12: 287
- 70.- KLUBA, J; KLUBA, U und SCHIMOT, J.- 1975  
("Influence of orotic acid upon post-excitatory facilitation released by stimulation of the tooth pulp")  
Acta Biol Ger., 34: 1857
- 71.- KNIGHT, W.A.- 1969  
"Hepatitis viral aguda", 395/399 en Terapèutica 1969 (COHN)  
Edit. Salvat (Barcelona)
- 72.- KRAKOFF, I.H.- 1967  
"Clinical pharmacology of drugs which influence uric acid production and excretion"  
Clin. Pharmacol. Therap., 8: 124
- 73.- KUNTZMAN, R; JACOBSON, M; SCHNEIDMAN, K and CONNEY, A.H.-  
1964

"Similarities between oxydative drug-metabolizing enzymes and steroid hydroxylases in liver microsomes"

J. Pharmam., Exp. Ther.,- 146: 280

74.- KUNTZMAN, R; JACOBSON, M and CONNEY, A.H.,- 1968

"Stimulatory effect of N-phenyl-barbital (phetherbital) on cortisol hydroxylation in man"

Biochem. Pharmacol.,- 17: 865

75.- KUNTZMAN, R; JACOBSON, M and CONNEY, A.H.,- 1966

"Effect of phenylbutazone on cortisol metabolism in man"

Pharmacologist.,- 8: 195

76.- KUSCHINSKY, G. y LULLMAN, H.,- 1967

"Kurzes lehrbuch der Pharmakologie", 3<sup>a</sup> Ed.

Ed. Georg Thieme Verlag (Stuttgart)

77.- LAPORTE ROSELLO, J.R.,- 1974

"Hígado y fármacos", en Avances en Terapéutica.,- 5: 149

Editorial Salvat (Barcelona).

78.- LAWSON, T.A.,- 1969

"The effect of prolonged feeding of ortho-aminoazotoluene on binling cellular constituents in mouse liver"

Chem. Biol. Interactions.,- 2: 9

79.- LEEVY, C.M.,- 1974

"Drug metabolism in liver disease", en International Sympo-

sium on Hepatotoxicity.

Ed. Academic Press (London, N.Y)

80.- LEHNINGER, A.L.- 1976

"Biosíntesis de mononucleótidos" en el cap. 25, pág. 603  
del libro "Bioquímica"

Ed. Omsa; Barcelona.

81.- LORENZO VELAZQUEZ, B.- 1965

"Un nuevo tratamiento de la gota y síndromes hiperurucémicos. El ácido úrico"

Arch. Fac. Med. Madrid.- VIII, 5; 355

82.- LORENZO VELAZQUEZ, B.- 1975

"Farmacología y su proyección a la clínica", 12ª Edición  
Editorial Oteo (Madrid)

83.- LOUIEOT, P.- 1969

"Biochemie métabolique; énergétique cellulaire, biosyntheses"  
SIMEP Editions (Lyon)

84.- MARROQUIN, R.F. and FARBER, E.- 1963

"The in vivo labelling of liver ribonucleic acid by p-dimethylaminoazobenzene -1-C<sup>14</sup>"

85.- MATSUSHIMA, T. and WEISBURGER, J.H.- 1969

"Inhibitors of chemical carcinogens as probes for molecular targets; dna as decisive receptor for metabolite from "

N-hydroxy-N-2-fluorenylacetamide"

Chem. Biol. Interactions, 1: 211

86.- MAYNERT, E.W and VAN DYKE, H.B.- 1949

"The metabolism of barbiturates"

Pharmacol. Rev.- 1: 217

87.- MEEROF, M.- 1973

"Hepatopatis medicamentosa"

Med. Rev. Max.- LIII, 1154; 182

88.- MILLER, J.A. and MILLER, E.C.- 1948

"Carcinogenicity of certain derivatives of p-dimethylaminozobenzene in the rat"

J. Exp. Med.- 87: 139

89.- MILLER, J.A. and MILLER, E.C.- 1963

"The carcinogenic aminozodyes"

Advan. Cancer. Rev.- 1: 339

90.- MILLER, E.C. and MILLER, J.A.- 1966

"Mechanisms of chemical carcinogenesis, nature of proximate carcinogens and interactions with macromolecules"

Pharmacol. Rev., 18: 805

91.- KIYAKI, K; AKAO, M; TERAO, K and KURODA, K.- 1969

"Modes of action of three bacteriostatic agents in their inhibitory effect on induction of hepatoma in rats fed

4 ( dimethylamino) azobenzene, I. Effect on metabolic fate  
of 4 ( dimethylamino) azobenzene,

Gen., 60: 162

92.- MONFORT ALBELDA, R; SANCHEZ DE LA CUESTA Y DE ALARCON, F;  
ALEMANY ONTIVEROS, J.R. y AZNAR LOPEZ, J.- 1972

"Estudio de un nuevo hepatoterápico (Sillimarina) sobre la  
intoxicación alcohólica experimental crónica en ratas"

Med. Suiza.- 4 y 5: 126

92 a.- MONFORT ALBELDA, R; AZNAR LOPEZ, J y SANCHEZ DE LA CUESTA  
Y DE ALARCON, F.- 1972

"Influencia de una nueva sustancia hepatoterápica sobre  
el sueño barbitúrico en ratas lesionadas con tetraclo-  
ruro de carbono"

Med. Suiza.- IV, 1: 23

93.- MONFORT ALBELDA, R; ALEMANY ONTIVEROS, J.R; SANCHEZ DE  
LA CUESTA Y DE ALARCON, F y AZNAR LOPEZ, J.- 1972

"Estudio experimental de los efectos hepatotróficos de la  
Sillimarina en ratas hepatectomizadas"

Schw. Med. Woch.- IV (ED. española)

94.- MONFORT ALBELDA, R; ALEMANY ONTIVEROS, J.R; SANCHEZ DE LA  
CUESTA Y ALARCON, F y AZNAR LOPEZ, J.- 1972

"Influencia de la Sillimarina sobre los efectos del Tetra-  
cloruro de Carbono en la actividad diamino-oxidasa del  
hígado de rata"



Actualidad Médica, Noviembre

95.- MOWATT, A.P.- 1968

"Developmental effects on liver D-glucoronolactone dehydrogenase levels and on D-glucaric acid excretion in urine; hormonal effects on D-glucaric acid excretion in urine"

J. Endocrinol.- 42; 585

96.- MUELLER, G.C and MILLER, J.A.- 1949

"The reductive cleavage of 4-dimethylaminoozobenzene by rat liver; the intracellular distribution of the enzyme system and its requeriment for triphosphopyridine nucleotide"

Jour. Biol. Chem.- 180; 1125

97.- "Naunyn Schaisdeberg's Archiv für Pharmakologie"

Vol. 268, n° 1, 2, 3, 4.- 1971

Vol. 269, n° 1, 2, 3, 4.- 1971

Vol. 270, n° 1, 2, 3, 4.- 1971

Vol. 271, n° 1, 2, 3, 4.- 1971

Vol. 272, n° 1, 2, 3, 4.- 1972

Vol. 273, n° 1, 2, 3, 4.- 1972

Vol. 274, n° 1, 2, 3, 4.- 1972

Vol. 275, n° 1, 2, 3, 4.- 1972

Vol. 276, n° 1, 2, 3, 4.- 1973

Vol. 277, n° 1, 2, 3, 4.- 1973

- 98.- NIKOLAEVA, L.F; CHERPACHENKO; N.M; SOKOLOVA, R.I; VESELOVA, S.P; GOLIKOV, P.P.- 1975  
("Ways of drug action on the restorative processes in the myocardium in experimental myocardial infarct")  
Kardiologia, 15, 7: 78
- 99.- OPORTO RUIZ, T; ALEMANY ONTIVEROS, J.R; SANCHEZ DE LA CUESTA Y DE ALARCON, F y AZNAR LOPEZ, J.- 1972  
"Efectos de la Silimarina sobre la capacidad hepatotóxica del "Butter-yellow" asociado a dieta de arroz, en ratas"  
Rev. Clin. Esp.- 127, 6: 1095
- 100.- QUEDA, P et PERRIN, D.- 1968  
"Les hépatites virales aiguës bénignes. Symptômes, évolution et traitement"  
Rev. Prat.- 17: 2581
- 101.- PERREAU, P et VERGER, P.- 1972  
"Le orotate d'Alca dans la pathologie hépatique"  
L'Quest Medical.- 3: 231
- 102.- "Pharmacological Reviews"  
Vol. 23, n° 1, 2, 3, y 4.- 1971  
Vol. 24, n° 1, 2, 3, y 4.- 1972  
Vol. 25, n° 1, 2, 3, y 4.- 1973

- 103.- PICKERING, R.W; LYNN JAMES, G.W and PARKER, F.L.- 1975  
"Inhibition, by drugs, of galactosamine induced hepatitis in the rat"  
Arzneim Forsch., 25, 10; 1991
- 104.- PLATT, D and Von SCHNORR, B.- 1971  
"Biochemische und elektronenoptische Untersuchungen zur Frage der Beeinflussbarkeit der Aethanol-Schädigung der Rattenleber durch Silymarin"  
Arzneim. Forsch.- 21; 1206
- 105.- PLATT, D. and SCHNORR, B.- 1971  
"Activities of Lysosomal enzymes of the rat Liver after Administration of Ethanol"  
Naun. Schmed. Arch. Pharm., 270; 343
- 106.- POSER, G.- 1971  
("Experiencias con Silimarina en el tratamiento de las hepatopatías crónicas")  
Arzneim. Forsch.- 21, 8; 1209
- 107.- RADA, B and DRAG\*U\*N, M.- 1976  
"Inhibition of Newcastle disease virus replication by 6-azauridine. II. Combination of 6-azauridine and adenine derivatives"  
Acta Virol., 20, 2; 102

108.- RAVINA, A.- 1966

("Tratamiento de las artrosis y artritis por el ácido  
orótico")

Press. Medicals.- 74, 53; 2739

109.- REMMER, H and MERKER, H.J.- 1968

"Effect of drugs on the formation of smooth endoplasmic  
reticulum and drug-metabolizing enzymes"

Ann. N.Y. Acad. Sci.- 123; 79

110.- REMMER, H.- 1970

"The rôle of the liver in drug metabolism"

Am. J. Med.- 49; 167

111.- REMMER, H.- 1972

"Induction of drug metabolizing enzyme system in the liver"

Europ. J. Clin. Pharm., 5; 116

112.- ROBBINS, S.L.- 1975

"Neoplasias", Cap. IV en el libro Anatomía Patológica es-  
tructural y funcional.

Ed. Interamericana.- México.

113.- ROHEIM, P.S.- 1966

"Alterations of lipoprotein metabolism in orotic and in-  
duced fatty liver"

Lab. Invest., 15; 21

- 114.- ROBITAILLE, J; RAMIREZ DEL VILLAR, S; AMDYEL, F; GODCHAUX, P; BALLEREAU, E; BOURLA, M et PRESGURVIC, F.- 1972  
 "Le orotate d'Alca et les affections dans la pratique médicale"  
 Gaz. Med. France.- 79, 36; 6684
- 115.- RULL SEGURA, S.- 1974  
 "Corticoides, antimetabolitos e hígado"  
 Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.- XLIV; 409
- 116.- RUMACK, B.H; HOLZMAN, J and CHASE, H.P.- 1973  
 "Hepatic drug metabolism and protein malnutrition"  
 J. Pharm. Exp. Ther., 186, 3; 441
- 117.- RUMMEL, V; BUCH, H; BUZZELLO, W and NEUROHR, O.- 1969  
 "Durchtritt von Pharmaka durch nichtporöse Membranen aus Gummi und Kunststoff"  
 Naunyn-Schmied Arch. Exp. Path. Pharm., 262; 366
- 118.- RYMAR-SHCHERBINA, N.B.- 1976  
 ("Effect of glutamine, thymidine and orotate on the nucleic acid content in the cell nuclei of regenerating liver in sodium fluoride poisoning")  
 Ukr Biokhiz Zh., 48, 3; 375
- 119.- SANCHEZ DE LA CUESTA Y DE ALARCON, F.- 1971  
 "Principales efectos zotrogénicos de la antibioterapia digestiva"

Simposium sobre antibióticos y antimetabólicos en Ap. Digest.  
Ambulatorio. Hermanos; García Noblejas.- MADRID.-

120.- SANCHEZ DE LA CUESTA Y DE ALARCON, F; OPORTO RUIZ, T. y  
MARTINEZ LOPEZ, J.- 1973

"Acción de la Silimarina en el tratamiento de hepatopa-  
tías parenquimatosas difusas"

Rev. Esp. Enf. Ap. Dig. XLI, 87: 104

121.- SATO, K; POIRIER, A; MILLER, J.A. and MILLER, E.C.- 1966

"Studies on the N-Hydroxylation and carcinogenecity of  
4-Aminoazobenzene and Related Compounds"

Cancer Research, 26: 1680

122.- SCHAFFNER, F.- 1976

"Cirrosis", 463/469 en Terapéutica 1976 (COHN)

Edit. Salvat (Barcelona)

123.- SCHILDER, M.- 1970

("La silimarina en el ensayo clínico")

Therapiewoche.- 20, 52: 3446

124.- SCHMIDT, M.- 1971

Clin. Chem., 15. 6: 472

- 125.- SCHMITT, H.- 1973  
"Elements de pharmacologie", 5<sup>e</sup> Edition  
Flamarion Medicine-Sciences (Paris)
- 126.- SCHRIEFERS, K.H y DIETZ, D.- 1969  
("Influenciación de la función hepática con Silimarina  
en operaciones anastomóticas porto-cava")  
Therapiewoche, 19, 35; 1545
- 127.- SEEGER, R und RIEGER, N.- 1971  
"Der Einflung der Temperatur un des pH-Wertes auf die  
stabilisierende und lytische Wirkung von Silymarin-Na-  
triumsals an mauschliden Erythrocyten"  
Arzneim. Forsch., 21; 1680
- 128.- SEEGER, R.- 1971  
"Die Wirkung von Silymarin auf die osmotische Resistenz der  
Erythrocyten"  
Arzneim. Forsch., 21; 1599
- 129.- SESSIONS, J.T; MINKEL, H.P; BULLARD, J.C. and INGELLINGER,  
F.J.- 1964  
"The effect of barbiturates in patients with liver disease"  
J. Clin. Invest.- 33; 1116
- 130.- SHERLOCK, S.- 1968  
"Drugs and the liver", in Diseases of the liver and bi-

liary system"

Edit. Blackwell Scientific Publications,-- Oxford

131.-- SHERLOCK, S.-- 1975

"Hepatitis vírica aguda", 458/460 en Terapéutica 1975

(CONN)

Edit. Salvat (Barcelona)

132.-- SPELLBERG, M.A.-- 1975

"Enfermedades del hígado", 2ª Edición.

Ed. Científico-Médica, Barcelona

133.-- SUGIURA, K and RHODAS, C.P.-- 1942

"The effect of yeast feeding upon experimentally produced liver cancer and cirrhosis"

Cancer, Res., 2: 453

134.-- SZELENYI, I.-- 1971

"Acción del orotato de magnesio y del ácido orótico sobre la actividad enzimática del hígado"

Munch. Med. Woch. (Ed. Español), 8: 701

135.-- SZIRMAI, E und KLOSA, J.-- 1976

("The influence of orotic acid on the learning process of rats")

Arzneim. Forsch., 26, 9: 1685



136.- TAMBURO, C.H and LEEVY, C.M.- 1974

"Hepatitis vírica aguda", 471/474 en *Terapéutica* 1974

(CONN)

Edit. Salvat (Barcelona)

137.- MUELLER, G.C. and MILLER, J.A.- 1953

"The metabolism of methylated aminoazo dyes. II. Oxidative demethylation by rat liver homogenates"

J. Biol. Chem.- 202: 579

138.- *Vademecum Internacional*.- 1976

17ª Edición

Ed. Daimon, Barcelona

139.- VAZQUEZ DE PRADA, J.R.- 1974

"Estudios experimentales con Silimarina. I. Estudio comparado de actividades enzimáticas mitocondriales de hígado de ratas tratadas con etionina y con etionina más Silimarina"

Med. Clin. 1, 62: 23

140.- VAZQUEZ DE PRADA, J.R.- 1974

"Estudios experimentales con Silimarina. II. Efectos de la Silimarina sobre el hígado graso producido en ratas por la intoxicación alcohólica aguda"

Med. Clin., 2, 62: 117

141.- VOGEL, G.- 1968

"Silymarin, des antihepatotoxische Wirkprinzips aus *Silybum marianum* (L.)

Gaertn als Antagonist der Phalloidin- Wirkung"

Arzneim. Forsch.- 18; 1063

142.- VOGEL, G und TEMME, I.- 1969

"Die curative Antagonisierung des durch Phalloidin hervorgerufenen Leberschadens mit Silymarin als Modell einer antihepatotoxischen Therapie"

Arzneim. Forsch., 19, 4: 3

143.- VON SEEBACH, H.S.- 1972

"Adaptative changes following pharmacotherapy in human liver biopsies" in Fifth International Congress of Pharmacology

Abstracts, 142.- San Francisco

144.- WAGNER, H; HORNHAMMER, L and MÜNSTER, P.- 1968

"Zur Chemie des Silymarins (Silylin), des Wirkprinzips der Früchte von *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (*Cardus marianus* L.)"

Arzneim. Forsch.- 18; 538

145.- WAGNER, H; HORNHAMMER, L and SEITZ, M.- 1968

"Chemische Werthastimmung eines Silymarin-haltigen Flavonoidkonzentrates aus *Silybum marianum* (L.) Gaertn"

Arzneim. Forsch.- 18; 696

146.- WARWICK, G.P. and ROBERTS, J.J.- 1967

"Persistent binding of butter yellow metabolites to rat liver DNA"

Nature, 213: 1206

147.- WILLIAMS, R.T.- 1964

"Drug metabolism in man as compared with laboratory animals"

Proc. Eur. Soc. Study Drug Toxicity.- IV: 9

148.- WILLIAMS, R.T.- 1967

"Comparative patterns of drug metabolism"

Fed. Proc.- 26: 1029

149.- WINDMUELLER, H.G.- 1964

"An orotic acid-induced, adenine-reversed inhibition of hepatic lipoprotein secretion in the rat"

The Journal of Biological Chemistry, 239, 2: 530

150 ZILVERSMITH, D.B. and DAVIES, A.K.- 1960

"Microdetermination of plasma phospholipids by trichloroacetic acid precipitation"

J. Lab. Clin. Med. 35: 155

151.- ZOLLNER, N; KILSCH, K.- 1962

"Über die quantitative Bestimmung von Lipoiden (Mikromethode) mittels der vielen natürlichen Lipoiden (allen bekannten Plasmalipoiden) gemeinsamen Sulfophosphover-

lin-Reaktion"

Z. Ges. Exp. Med. 135: 546 (1962)

X. INDICE GENERAL.

TITULO	Página	1
I.- AGRADECIMIENTO	"	2
II.- CONFORMIDAD DEL DIRECTOR DE LA TESIS	"	5
III.- RESUMEN	"	2
IV.- INTRODUCCION	"	10
IV. 1/ Justificación	"	11
IV. 2/ Crítica de los mal llamados protectores hepáticos	"	14
IV. 3/ Estudio del modelo experimental utilizado	"	21
1- La dieta carencial	"	21
2- El tóxico hepático	"	24
/ 3- Hígado y drogas	"	29
IV. 4/ El ácido orótico como droga hepa- totropa	"	34
IV. 5/ Farmacología de la silimarina	"	45
V.- MATERIAL y METODOS	"	55
VI.- RESULTADOS	"	63
1.- Evolución del peso corporal	"	64
2.- Lípidos hepáticos	"	70
3.- Triglicéridos hepáticos	"	74
4.- Fosfolípidos hepáticos	"	78
5.- Transaminasa glutámico-oxal-acética	"	83
6.- Transaminasa glutámico-pirivica	"	90
7.- Proteinograma electroforético	"	94

7. 1/ Pre-albúmina	Página	94
7. 2/ Albúmina	"	98
7. 3/ Alfa-1-globulina	"	102
7. 4/ Alfa-2-globulina	"	106
7. 5/ Pre-beta-globulina	"	106
7. 6/ Beta-1-globulina	"	112
7. 7/ Beta-2-globulina	"	116
7. 8/ Fibrinógeno	"	119
7. 9/ Gamma-globulina	"	122
8.- Estudio anatómo-patológico	"	126
<b>VII.- CONCLUSIONES</b>	"	<b>130</b>
VII. 1/ En relación al peso de los animales	"	131
VII. 2/ En relación a los parámetros analíticos en tejido hepático	"	131
VII. 3/ En relación a las determinaciones plasmáticas	"	132
VII. 4/ En relación a las lesiones anatómo-patológicas	"	136
<b>VIII.- ICONOGRAFIA</b>	"	<b>138</b>
<b>IX.- REFERENCIA BIBLIOGRAFICA</b>	"	<b>158</b>
<b>X.- INDICE GENERAL</b>	"	<b>169</b>