



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN



**EVALUACION DE LA EFECTIVIDAD DE LA SILIMARINA  
(Silybium marianum) EN ALTERACIONES HEPATICAS EN  
CANIDOS MEDIANTE ANALISIS DE LABORATORIO**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A N :

**NINIVE BIBIANA CALDERON PRADO  
LUIS GERARDO GARCIA GAYTAN**

ASESORA:

MVZ. CONCEPCION OSWELIA SERNA HUESCA

COASESOR:

MVZ. QBP. GUILLERMO VALDIVIA ANDA

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1994

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA ACADÉMICA  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

UNIVERSIDAD NACIONAL  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLÁN  
P R E S E N T E .

AT.N: Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

" Evaluación de la efectividad de la Silimarina ( *Silybium marianum* ) en alteraciones hepáticas en cánidos mediante análisis de laboratorio "

que presenta la pasante: Calderón Prado Mónica Bibiana  
con número de cuenta: 8960152-1 para obtener el TÍTULO de:  
Medica Veterinaria Zootecnista ; en colaboración con :  
García Gaytán Luis Gerardo

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 9 de mayo de 1994

PRESIDENTE H.C. Rita del Castillo Rodríguez  
VOCAL QBP. Guillermo Valdivia Anda  
SECRETARIO MVZ. Gavelina Sierra Huasca  
PRIMER SUPLENTE MVZ. Víctor Quintero Ramírez  
SEGUNDO SUPLENTE MVZ. Lucía García Canacho

*Guillermo Valdivia Anda*  
*J. Sierra*  
*V. Quintero Ramírez*  
*Lucía García Canacho*



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
SECRETARIA ACADEMICA  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN  
P R E S E N T E .

ATN: Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.



Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

" Evaluación de la efectividad de la Silimarina ( *Silybium marianum* ) en alteraciones hepáticas en cánidos mediante análisis de laboratorio ".

que presenta el pasante: García Gaytán Luis Gerardo  
con número de cuenta: 8533759-8 para obtener el TITULO de:  
Medico Veterinario Zootecnista ; en colaboración con :  
Calderón Prado Nínive Bibiana

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Mex., a 9 de mayo de 1994

PRESIDENTE	<u>M.C. Rita del Castillo Rodríguez</u>	
VOCAL	<u>DBP. Guillermo Valdivia Anda</u>	
SECRETARIO	<u>MVZ. Osvelia Serria Huesca</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>MVZ. Victor Quintero Ramirez</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>MVZ. Lucia Garcia Camecho</u>	

A MIS PADRES POR SU CARINO Y APOYO. YA QUE GRACIAS A ELLOS PUDE  
LOGRAR MIS METAS.

A MI ABUELITA ENRIQUETA YA QUE ELLA ES COMO MI SEGUNDA MADRE.

A MARTHA QUE AUNQUE NO ESTA FISICAMENTE CONMIGO, LA LLEVO SIEMPRE  
EN MI CORAZON.

A GERARDO POR TODO SU AMOR, Y EJEMPLO DE SUPERACION EN LA VIDA.

A TODOS AQUELLOS SERES, DE LOS CUALES TOMAMOS SU VIDA PARA UNA  
BUENA CAUSA

BIBIANA

A MIS PADRES POR SU APOYO EN LOS MOMENTOS DIFICILES Y POR TODO EL  
AMOR QUE ME HAN DADO.

A MIS HERMANOS: MARCO ANTONIO, ULISES, ISMAEL, MOISES Y TONATIUH.

A MI CUNADA TERESA Y MI QUERIDA SOBRINA DANIELI.

A ALFREDO, ADRIANA Y SUS HIJOS ALFREDO Y ADRIAN.

A MIS ABUELOS JULIAN Y FRANCISCA, CIRILO † Y GUADALUPE.

A BIBIANA POR SU COMPRESION, AMOR Y POR TODOS LOS MOMENTOS  
ALEGRES Y TRISTES QUE ME HA DADO.

PORQUE DE CADA UNO DE USTEDES TENGO ALGO QUE ME MOTIVA A SER  
MEJOR CADA DIA Y LOS LLEVO SIEMPRE EN MI CORAZON.

LUIS GERARDO

## AGRADECIMIENTOS

A nuestros asesores y sinodales por que con sus consejos y ejemplo de profesionalismo, han hecho posible la realización de este trabajo.

Al laboratorio BYK Gulden por las facilidades prestadas y en especial al Dr. José Tomás-Pons.

Al MVZ Javier Rodriguez por su apoyo desinteresado.

A la sección de Analisis Clínicos y Patología y de manera especial a Ignacio, Lucía G. y Arcelia.

A nuestros amigos Juan José Cornelio V., Juan Manuel Delgadillo E. y Nils Thomas Grabowsky O.

## INDICE

	Página
RESUMEN .....	1
INTRODUCCION .....	3
OBJETIVOS .....	19
MATERIAL Y METODOS .....	20
RESULTADOS .....	26
DISCUSION .....	63
CONCLUSIONES .....	69
BIBLIOGRAFIA .....	70

## RESUMEN

La silimarina es una sustancia que se extrae de una planta llamada Silybium marianum la cual protege a los hepatocitos evitando la peroxidación lipídica de sus membranas, provocando un efecto estabilizador; que ha sido comprobado con buenos resultados en medicina humana.

Para evaluar su eficacia se utilizaron 27 perros aparentemente sanos divididos al azar en 3 grupos. Al grupo 1 se le administró tetracloruro de carbono, para provocar necrosis hepática; al grupo 2 se le administró tetracloruro de carbono más silimarina y al grupo 3 sólo se le administró silimarina.

Se tomó una muestra inicial, la cual reportó los valores a las 0 horas y posterior a los tratamientos se tomaron muestras de sangre a las 24 y 120 horas para realizar el diagnóstico de alteración hepática mediante las pruebas de transaminasa glutámico pirúvica, fosfatasa alcalina sérica, bilirrubina sérica (total, directa e indirecta), proteínas totales, albúmina y globulinas. Así mismo se determinaron los valores de biometría hemática para correlacionarlos en los 3 grupos.

Inmediatamente después del último muestreo se sacrificó a los perros con una sobredosis de Pentobarbital sódico (50-60 mg/Kg/pv) y se les tomaron muestras de hígado para examinarlos histopatológicamente.

Los resultados se evaluaron por grupo mediante un análisis de

varianza factorial 2x2 y de este análisis solo donde se demostró significancia en  $p < 0.01$  y  $p < 0.05$  se les practicó una prueba de Tukey, observándose que el grupo al cual se le administró tetracloruro de carbono tuvo un aumento significativo en las enzimas transaminasa glutámico pirúvica y fosfatasa alcalina sérica así como en bilirrubina total en comparación con los grupos de tetracloruro de carbono más silimarina que mantuvieron sus valores dentro de los rangos normales, de igual manera se observó un mayor grado de lesión histopatológica en el grupo al que se le administró tetracloruro de carbono en relación al grupo que se le dió tetracloruro de carbono más silimarina.

Los valores de hematología mostraron una leucocitosis en el grupo al que se le administró tetracloruro de carbono, esto aunado a las pruebas anteriores refleja un daño hepático.

Sin embargo el grupo al cual se le administró tetracloruro de carbono más silimarina no presentó alteración de sus valores hemáticos.

En el tercer grupo, al que se le administró sólo silimarina se observó únicamente un aumento en el conteo de eosinófilos.

De esta manera se comprobó la eficacia de la silimarina como hepatoprotector en la intoxicación con tetracloruro de carbono.

## INTRODUCCION

### SILIMARINA:

Existen numerosas sustancias que han sido utilizadas para el tratamiento de hepatopatías, como por ejemplo extractos de hígado, variedades de vitaminas ( 32 ), corticosteroides, combinaciones de aminoácidos, infusiones de fructosa ( 64 ), etc. por mencionar sólo algunos, sin embargo los resultados no fueron tan exitosos como se quisiera ( 44 ).

Por lo anterior la investigación sobre nuevas terapias continua, una de ellas se basa en la utilización de una sustancia llamada silimarina, siendo esta de origen natural, es extraída de una planta medicinal llamada Silybium marianum o Cardus marianum. Es conocida desde hace más de 2000 años ( 28, 38 ): en algunos países europeos como por ejemplo Alemania se creía que era un regalo de la diosa Freya, existen reportes de que desde la edad media se utilizó en el tratamiento para la hepatitis por Lonicerus, empleándose en forma empírica ( 12 ). Durante la época de los sesentas se hicieron amplias investigaciones clínico-farmacológicas para su utilización en padecimientos hepatobiliares ( 44 ).

Química.- La silimarina está compuesta por tres isómeros, los cuales son: silibina, silidianina y silicristina ( 29, 1 ): que son considerados como flavolignanós con una fórmula empírica  $C_{25}H_{22}O_{10}$  ( 51 ).

Administración.- En forma de capsulas ( 1 )

Mecanismo de acción.- Se basa en una modificación de la permeabilidad de las membranas ( 43 ), debido a sus propiedades antioxidantes, actúa como acarreador de radicales libres ( 2 ), estabilizando la membrana y conservando su composición lipídica manteniendo así su integridad funcional ( 37, 40, 46 ). Se postula que influye en la síntesis proteica del hepatocito teniendo en cuenta el aumento de la facultad regenerativa del hígado después de la aplicación del fármaco ( 51 ). Esta sustancia fue utilizada de manera preventiva con gran éxito ( 40 ). Se ha demostrado que la silimarina realiza un efecto normalizador de la actividad enzimática hepatoespecífica ( 47 ).

Después de una lesión hepática experimental, parece tener la propiedad de evitar un aumento patológico en la concentración de ácidos grasos libres en el suero ( 40, 46, 51 ).

Experimentalmente la silimarina fue capaz de inhibir el efecto hepatotóxico de sustancias como tetracloruro de carbono ( 40 ), etanol, tioacetamida ( 5 ), talio ( 37 ), paracetamol ( 42 ) y el hongo Amanita phalloides ( 13, 62 ); clínicamente demostró ser eficaz en lesiones hepáticas de etiología viral y alcohólica ( 1 ); así como en cirrosis hepática ( 30, 40 ).

Farmacocinetica.- Sigue el ciclo entero-hepático; se excreta básicamente por medio de la bilis ya que su concentración en sangre y orina es muy baja ( 26, 29, 50 ).

Dosis.- 100mg/kg/Pv ( 47. 62 ).

Toxicidad.- No se han reportado efectos tóxicos ni colaterales ( 1. 7 ).

#### TETRACLORURO DE CARBONO:

Para comprobar la eficacia de la Silimarina se ha utilizado el tetracloruro de carbono en diversas investigaciones ( 28. 35. 38. 40. 47. 48 ); es un hidrocarburo clorado que se empleaba para el tratamiento contra Toxocara sp; Ancilostoma sp y Uncinaria sp en los perros. pero por su elevada toxicidad hepática se descontinuo su uso ( 21. 36 ).

Química.-Es un líquido incoloro. volatil. de olor característico y sabor ardiente. no es corrosivo ni flamable. el tetracloruro de carbono (  $CCl_4$  ) es muy similar químicamente al cloroformo (  $CHCl_3$  ); tiene una acción catártica ( 17 ).

Administración.- En animales pequeños se administra en forma de cápsulas de gelatina y a veces se disuelve en aceite mineral.

Absorción.- Se absorbe por el tubo digestivo y normalmente sólo pasan a los tejidos cantidades mínimas no tóxicas. Su absorción y con ello su toxicidad. aumentan cuando la ingesta contiene gran cantidad de grasas o cuando se usan dosis fraccionadas en vez de una dosis única. El vapor puede absorberse fácilmente por los pulmones; la concentración en el aire al 1 por 1.000 es el límite de seguridad ( 21 ).

Mecanismo de acción.- Se da por la formación de radicales lipídicos libres, que rápidamente toman moléculas de oxígeno, iniciándose de esta manera la peroxidación lipídica, casi al mismo tiempo hay cambios en el sistema enzimático del hígado, provocando un fuerte daño hepático ( 32 ).

Eliminación.- La dosis terapéutica del tetracloruro de carbono se elimina del organismo por los pulmones, apareciendo sólo indicios en la orina ( 21 ).

Toxicidad.- La acción hepatotóxica puede causar muertes tardías, dosis pequeñas producen degeneración grasa del hígado y dosis mayores provocan necrosis centrolobulillar ( 17 ).

La necrosis de células hepáticas en torno a la vena central se da en el transcurso de 24 horas. A las 48 horas se observan procesos inflamatorios, hemorrágicos y necróticos ( 17, 21 ).

Después del tercer día subsiste la reacción inflamatoria y es seguida de regeneración de los tejidos. El hígado se normaliza hacia el octavo día ( 17, 21 ).

Setchell ( 21 ), consideraba que para que puedan observarse síntomas de intoxicación, la alteración hepática debe de estar acompañada de insuficiencia renal casi completa.

La rápida recuperación de las alteraciones hepáticas hace imposible el riesgo de intoxicación crónica y la administración de dosis terapéuticas pequeñas de tetracloruro de carbono a intervalos mensuales durante nueve meses no producen síntoma

alguno de intoxicación ( 17 ).

Los perros pueden intoxicarse con la administración de una cantidad de 0.25 ml/Kg/Pv ( 21 ).

Dosis.- La dosis en perros es de 0.1 a 0.2 ml/Kg/Pv ( 17 ).

#### PRUEBAS DE LABORATORIO PARA EVALUAR EL FUNCIONAMIENTO HEPATICO:

Para evaluar las alteraciones producidas por los fármacos antes mencionados se requiere de pruebas de laboratorio, las cuales son complicadas debido a las diversas actividades metabólicas que efectúa este órgano aunado al singular potencial regenerativo que posee; es por eso que la selección de una prueba en particular como índice confiable de la función hepática en todas las circunstancias está sujeta a serias limitaciones:

- a) Las funciones del hígado son variadas y en caso de enfermedad no se ven afectadas de la misma manera.
- b) La reserva funcional hepática es tan grande, que el 80 % del órgano puede encontrarse destruido antes de que se haya detectado alguna anomalía.
- c) La regeneración de las células hepáticas es tan activa, que la función del tejido neoformado rápidamente compensa la pérdida a menos que el daño sea generalizado.
- d) El trastorno funcional del hígado puede presentarse antes de que se detecte la lesión por examen histopatológico, pero también es posible lo contrario.

Por lo general es necesario usar una batería o perfil de varias pruebas de funcionamiento hepático para definir el problema, ya que la función hepática varía según el tipo y el grado de la enfermedad, siendo conveniente realizar observaciones repetidas ( 4. 8. 20 ). A continuación se mencionan las pruebas más utilizadas para la valoración del hígado con fines clínicos. Estas pruebas se clasifican de la siguiente manera:

I Pruebas que estudian las funciones secretora y excretora.

A.- Pigmentos biliares.

II Pruebas para medir la actividad de las enzimas del suero.

A.- Transaminasas.

B.- Fosfatasa alcalina.

C.- Otras enzimas.

III Pruebas que estudian funciones bioquímicas específicas.

A.- Pruebas del metabolismo de proteínas.

B.- Pruebas del metabolismo de carbohidratos.

C.- Pruebas del metabolismo de lípidos ( 8 ).

I PRUEBAS CON BASE EN LAS FUNCIONES SECRETORAS Y EXCRETORAS:

A.- PIGMENTOS BILIARES.- La secreción biliar es una de las funciones más importantes del hígado. La bilirrubina es excretada en la bilis y degradada por la actividad bacteriana en el intestino para formar estercobilinógeno, algo de este es absorbido por el colon y pasa al sistema portal, como parte de la

circulación enterohepática de pigmentos biliares. En el animal normal, la pequeña cantidad de estercobilinógeno que no es excretada por el hígado, es excretada por los riñones como urobilinógeno ( 8. 34 ).

Aproximadamente el 85 % de la bilirrubina se forma a partir de la hemoglobina liberada de los eritrocitos viejos que se destruyen en las células reticuloendoteliales del bazo. El 15 % restante se deriva de otras proteínas que son principalmente citocromos hepáticos ( 4 ).

Los resultados efectuados en suero de caninos sanos, son muy similares a los que se obtienen en suero humano, observándose valores muy bajos de bilirrubinas en suero ( 34 ); para interpretar los resultados, es relevante considerar la relación entre los porcentajes de bilirrubina conjugada y no conjugada más la concentración total de cada una de ellas por separado. Los niveles elevados de bilirrubina no conjugada o libre ( menos del 20 % de la forma conjugada ) indican enfermedades hemolíticas y más de 40 % de la bilirrubina total en forma conjugada casi siempre significa enfermedad hepatocelular. Cuando existe hemólisis y además enfermedad hepatocelular pueden aparecer niveles de bilirrubina conjugada que corresponden al 25 ó 35 % del total ( 8. 24. 52 ).

## II PRUEBAS CON BASE EN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA:

A.- TRANSAMINASA GLUTAMICO PIRUVICA ( TGP ) .- También llamada alanina amino transferasa. ( ALT ) es una de las dos enzimas que cataliza la transferencia reversible de un grupo amino en el ciclo del ácido tricarboxílico o cítrico. se necesita para la producción de energía por parte de los tejidos.

Esta enzima se produce fundamentalmente en el citoplasma del hepatocito y en menores cantidades en riñon, corazón y musculo estriado. Su vida media es de aproximadamente 8 horas. Es un indicador relativamente específico de lesión hepatocelular aguda, pues cuando ocurre el daño, la TGP del citoplasma pasa a la corriente sanguínea incluso antes de que surja ictericia, con lo cual se aumentan considerablemente sus niveles séricos y a menudo no vuelven a sus límites normales durante días ( 8, 20, 24 ).

Puesto que la principal función y la mayor concentración de esta enzima ocurren dentro de la célula, los aumentos observados en el suero reflejan anomalías celulares hepáticas, siendo en el perro y el gato un indicador específico de daño hepático, situación que no ocurre en el caballo adulto, oveja, cerdo y bovinos, porque estas especies no tienen cantidades importantes de la enzima en sus hepatocitos.

La actividad de la enzima después de la intoxicación con tetracloruro de carbono, fué estudiada por Cornelius ( 4 ), en varias especies domésticas encontrando, que los perros mostraron

mayor actividad de TGP en los tejidos hepáticos normales que otros animales domésticos y después del envenenamiento con tetracloruro de carbono, el contenido sérico de la enzima aumentó hasta 550 veces el valor normal, lo que indicó un daño hepático agudo. Sin embargo, no se debe de ignorar la posibilidad de una pequeña elevación en necrosis del miocardio y riñon, ya que estos contienen actividad de TGP.

B.- FOSFATASA ALCALINA SERICA.- Las fosfatasa alcalinas constituyen un grupo de enzimas que participan en la hidrólisis de los monoésteres del fosfato a un pH alcalino de 9. Son importantes para el transporte del azúcar y los fosfatos en la mucosa intestinal, túbulos renales, hueso y placenta ( 4.). Por lo tanto, los tejidos que muestran la concentración más elevada de fosfatasa alcalina comprenden sistema óseo sistema hepatobiliar, túbulos renales, placenta y bazo ( 20 ). Sus niveles elevados en suero reflejan la actividad combinada de varias isoenzimas de fosfatasa. La fosfatasa alcalina proveniente de hígado es la que está presente en el suero del animal adulto ( 24 ).

La prueba de fosfatasa alcalina es muy sensible a la presencia de obstrucción mínima de vías biliares y constituye un indicador primario de lesiones expansivas en el hígado. Sin embargo, se necesitan otros estudios de la función hepática para identificar los transtornos hepatobiliares ( 8 ). En las enfermedades del

sistema óseo también aumenta el nivel de la enzima. por lo que se puede utilizar en el diagnóstico de enfermedades de los huesos. aunado a pruebas más específicas ( 4, 8 ).

La vida media de la enzima del hígado es de tres días. la elevación de fosfatasa alcalina sérica en el suero de caninos se relaciona con enfermedad hepática activa. la intensidad del aumento depende de la naturaleza de la lesión. La necrosis hepatocelular aguda produce aumentos pequeños de fosfatasa alcalina sérica ( 20 ).

En perros con traumatismo del hígado o intoxicación por Tetracloruro de carbono el aumento de Fosfatasa Alcalina Sérica presenta de dos a tres veces la concentración inicial ( 34 ).

### III PRUEBAS CON BASE EN FUNCIONES BIOQUIMICAS ESPECIFICAS:

A.- PRUEBAS DEL METABOLISMO DE PROTEINAS.- Estas pruebas evalúan las distintas funciones bioquímicas específicas del hígado y nos indican defectos en la síntesis celular de algunos compuestos. Las proteínas están constituidas por una estructura primaria que consiste en cadenas de aminoácidos unidas por enlaces peptídicos. En el plasma existen dos tipos de proteínas la albúmina y globulinas. estas últimas se dividen en fracciones alfa, beta, y gamma ( 8, 15 ).

La albúmina, las globulinas alfa y beta y las proteínas de la coagulación se sintetizan en el hígado. es por esta razón que

cualquier variación en sus valores absolutos o en sus relaciones es sugestivo de alteraciones hepáticas ( 8. 20 ).

En el plasma del animal normal la albúmina representa el 40 a 60 % de toda la proteína del suero. influye en la presión osmótica, también actúa como reserva primaria de aminoácidos para la síntesis de proteínas tisulares.

Las globulinas se clasifican como alfa, beta y gamma: la concentración de globulinas alfa y beta varía según la especie y la función primaria. en estos dos tipos de proteínas se lleva a cabo el transporte de diversas sustancias ( 8. 20 ).

El estado nutricional del animal influye notablemente en la síntesis de proteínas plasmáticas de manera directa por el suministro de materia prima: en forma indirecta porque la falta de proteínas tiene efecto letales sobre el hígado ( 8 ).

La interpretación de las alteraciones que se presentan en las proteínas plasmáticas se basa en el conocimiento de los diferentes factores fisiológicos y patológicos capaces de inducirlos.

Lo más frecuente en la alteración de las proteínas del plasma es la disminución de la albúmina que se acompaña casi siempre de hiperglobulinemia ( 8. 15. 24 ).

En general la síntesis deficiente de albúmina se debe a enfermedades crónicas del hígado. También se ha observado que la concentración de albúmina se reduce en la cirrosis del perro ( 4. 15. 24 ).

Es raro encontrar reducción de la concentración de globulinas pero se puede observar disminución en fracciones específicas ( 24. 34 ).

El descenso de la concentración absoluta de albúmina en el suero a causa de trastornos en la síntesis hepática normal es un trastorno bioquímico que no siempre aparece en forma temprana ( 8 ).

En la hepatitis aguda los cambios en la albúmina son menores. pero es más frecuente la elevación de las globulinas.

Los animales jóvenes por lo general tienen valores menores de albúmina que los adultos ( 8 ).

#### LESIONES HISTOPATOLÓGICAS:

La célula es una estructura dinámica, en permanente actividad respiratoria, metabólica y biosintética. Su relación con el espacio extracelular le permite intercambiar constantemente agua, iones y metabolitos con él, de esta manera se mantiene la distribución de los solutos en ambos lados de la membrana ( 58 ).

En el hígado podemos observar muchas y diversas lesiones, por lo que en este trabajo sólo se mencionaran algunas de ellas, como son:

#### I.- INFILTRACIONES PIGMENTARIAS:

1.- Ictericia.- Es la cantidad excesiva de bilirrubina circulante. se caracteriza por la coloración amarillenta de

los tejidos: en el hígado se manifiesta con un color difuso amarillo-pardo o bien verde oscuro. Dentro de las causas podemos encontrar hemólisis, la imposibilidad por parte del hepatocito a conjugar el pigmento con el ácido glucurónico o de eliminar al pigmento, así como también como consecuencia de obstrucciones ( 10. 23. 31 ).

2.- Melanosis.- Es una coloración negruzca en el órgano, bien delimitada, constituida por depósitos de melanina; es una alteración congénita ( 31 ).

3.- Hemosiderosis.- La hemosiderina se acumula en los hepatocitos y en las células reticuloendoteliales dando al hígado una coloración verdosa. Histológicamente se observan fenómenos atrófico-degenerativos centrolobulillares, estasis sanguínea, proliferación de elementos reticuloendoteliales de aspecto linfoide y acumulo de macrófagos ( 10. 31 ).

## II.- ALTERACIONES DEGENERATIVAS:

1.- Degeneración grasa.- Puede originarse en los lobulillos lipídicos existentes en la matriz citoplasmática, estos pueden ser triglicéridos o lípidos neutros y se presentan en los hepatocitos ( 31. 58 ). El proceso de acumulación lipídica se inicia al alterarse el proceso metabólico de dicha fracción, como ocurre en las intoxicaciones por químicos, por ejemplo: tetracloruro de carbono, el cual

daña el retículo endoplasmático rugoso con la inhibición de la síntesis proteica y reducción de la actividad enzimática, provocando la acumulación progresiva de triglicéridos. Los liposomas van aumentando de tamaño lo que ocasiona desplazamiento de organelos y núcleo ( 58 ).

2.- Necrosis.- Es la muerte celular que sucede en un sujeto vivo, es resultado de la acción de agentes: físicos ( traumatismos, calor o frío, etc. ) químicos ( cloruro de sodio, selenio, cloruro de mercurio, etc. ) biológicos ( virus, bacterias, parásitos, hongos, etc. ) estados de hipoxia y deficiencias nutricionales ( 18, 58 ). Puede ser primaria o secundaria a procesos degenerativos con distribución centrolobulillar difusa, con pequeños o grandes focos diseminados ( 31 ).

La célula va a desarrollar los cambios que caracterizan la muerte: para este cambio las mitocondrias han aumentado considerablemente su tamaño, hay ausencia de las crestas, ruptura y discontinuidad de la membrana externa: las proteínas forman agregados irregulares o concéntricos semejantes a anillos y el núcleo ha cesado su actividad. Estos cambios pueden deberse a tres situaciones:

a) Acumulación progresiva del ácido láctico, derivado de la glucólisis anaeróbica por el daño a mitocondrias, esto ocasiona modificación del pH con desnaturalización de

las proteínas e interferencia de los procesos metabólicos esenciales y que son sensibles al cambio de pH.

- b) La muerte celular puede deberse a la disminución de energía accesible a la célula, ocasionado por los niveles cada vez menores de ATP y ello permita que en el interior de la célula se vayan acumulando productos tóxicos, resultado de la desintegración de los organelos y del mismo agente causal ( 58 ).
- c) Puede ocurrir que daffen la membrana de los lisosomas y se liberen las enzimas hidrolíticas que llevan a la desintegración de los organelos que aún conservan su funcionalidad.

Las alteraciones observables en microscopio de luz como picnosis, cariorrexis y cariolisis son los cambios morfológicos que sobrevienen como señal de que la célula esta muerta ( 18 ).

### III ALTERACIONES INFLAMATORIAS:

- 1.- Hepatitis.- Etiológicamente puede ser tóxica, infecciosa y parasitaria ( 23, 31 ). Puede decirse que aunque varían las lesiones de acuerdo a las diferentes causas, en general, podemos encontrar alteraciones en la arquitectura lobulillar, zonas de necrosis, infiltrados inflamatorios y

en algunos casos también fibrosis ( 10 ).

#### IV.- PROCESOS CICATRIZALES:

1.- Cirrosis.- Es un termino que se aplica a enfermedades hepáticas de etiología variada como alcoholismo, sobrecarga de hierro, fármacos, etc. y tiene las siguientes características:

- a) Arquitectura desorganizada de la totalidad del hígado por la existencia de cicatrices fibrosas comunicantes que se forman como respuesta a la lesión y pérdida hepatocitaria.
- b) La fibrosis que puede estar en forma de finas bandas u ocupar amplias áreas.
- c) Formación de nódulos parenquimatosos por la actividad regenerativa y la trama de cicatrices, estos van desde menos de 3mm hasta varios centímetros de diametro.
- d) Reorganización de la arquitectura vascular secundaria a la lesión parenquimatosa y a la cicatrización con formación de anastomosis arteriovenosa anómala ( 10, 23, 31 ).

## OBJETIVOS

Evaluar, la eficiencia de la silimarina ( Silybium marianum ) como hepatoprotector en cánidos intoxicados con tetracloruro de carbono, por medio de pruebas de laboratorio clínico.

Evaluar la posible presentación de efectos tóxicos por la administración de silimarina ( Silybium marianum ), a través de pruebas de laboratorio clínico.

## MATERIAL Y METODOS

### GRUPO EXPERIMENTAL:

Se emplearon 38 perros criollos, 20 machos y 18 hembras con una edad que oscilaba entre 1 y 3 años con un peso promedio de 20 kilogramos.

Estos fueron proporcionados por el Centro Antirrábico de Atizapán de Zaragoza y enviados a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán donde se mantuvieron confinados en el área de perreras. A su llegada se les realizó una desparasitación con Ivermectina a dosis de 100 Ug/Kg/Pv.

Siete días después se les tomó una muestra de sangre, de la vena yugular externa utilizando tubos de autollenado y agujas calibre 21 ( Vacutainer, Becton-Dickinson ), enviando 10 ml de sangre sin anticoagulante y 5 ml de sangre con anticoagulante EDTA ( 1-2 mg/ml al 10 % ), al laboratorio Diagnóstico Integral Veterinario ( DIVET ), para la realización de un panel de pruebas de funcionamiento hepático y una biometría hemática completa respectivamente.

Con base en los resultados obtenidos de este muestreo preliminar fueron seleccionados 15 machos y 12 hembras, los cuales presentaron en su totalidad valores normales del panel de funcionamiento hepático excepto en los resultados de albúmina, donde se observó que eran más bajos de los límites normales

( tabla 1 ) pero no se consideraron para seleccionar a los animales, debido a que los perros criollos tienen una mala alimentación y está es una de las principales causas para que su valor sea bajo; hubo ligeras disminuciones en cuanto a los valores de la biometría hemática lo que sugería anemia, por lo cual se les dejaron 15 días para que sus valores hemáticos se estabilizaran al mejorar su dieta; estos animales fueron alimentados con una fórmula comercial ( Happy Dog, Purina ), distribuyendosele a cada individuo aproximadamente 500 g cada 24 horas y agua "ad libitum".

#### DISEÑO EXPERIMENTAL:

Se dividieron en tres grupos de acuerdo a como llegaron los animales y quedaron agrupados de la siguiente manera:

Grupo 1.- Constaba de 5 machos y 4 hembras.

Grupo 2.- Constaba de 7 machos y 2 hembras.

Grupo 3.- Constaba de 3 machos y 6 hembras.

Pasados los 15 días, se efectuó otra toma de sangre de la vena yugular externa mediante el procedimiento descrito anteriormente para la realización de las pruebas seleccionadas.

A las 48 horas de haber hecho la segunda toma de sangre se inició con la administración de los fármacos a experimentar de la siguiente manera:

Grupo 1.- Tetracloruro de carbono a una dosis única de 0.35 ml/Kg/Pv ( 47 ).

Grupo 2.- Tetracloruro de carbono a una dosis única de 0.35 ml/Kg/Pv más silimarina a dosis de 100 mg/Kg/Pv cada 12 horas durante 5 días ( 47 ).

Grupo 3.- Silimarina a dosis de 100 mg/Kg/Pv cada 12 horas durante 5 días ( 47 ).

La administración de tetracloruro de carbono fué oral por medio de una sonda gastroesofágica mezclado con igual cantidad de aceite de maíz para su mejor absorción ( 47 ) y la administración de silimarina fué también oral por medio de cápsulas, 6 horas después de la administración del tetracloruro de carbono, en el grupo 2.

Las cápsulas fueron utilizadas debido a que el laboratorio BYK Gulden, proporcionó el principio activo en forma de polvo, por lo que se tuvieron que adquirir cápsulas para poder dar la dosis que requería cada animal de acuerdo con su peso: cada capsula contenía 500 mg lo cual fué verificado sacando la diferencia entre el peso de la cápsula con el fármaco menos el peso de la cápsula vacía, haciendo está en una balanza analítica.

Se realizaron tomas sanguíneas a las 24 y 120 horas después del inicio de la administración de los fármacos para realizar las pruebas de laboratorio anteriormente mencionadas, después de lo cual se procedió a la eutanasia de los animales por medio de una

sobredosis de Pentobarbital sódico ( 50 a 60 mg/Kg/Pv ).

Una vez sacrificados se inició con la necropsia de los mismos tanto para tener un examen macroscópico de los órganos internos como para obtener una muestra de tejido hepático de todos los animales, enviándose estos al laboratorio antes mencionado para su análisis.

#### PRUEBAS DE LABORATORIO:

Funcionamiento hepático.- Los parámetros que se evaluaron en las pruebas de funcionamiento hepático fueron: transaminasa glutámico pirúvica, fosfatasa alcalina sérica, bilirrubina ( total, directa e indirecta ), proteínas totales, albúmina y globulinas, se determinaron por medio de las siguientes técnicas:

Transaminasa glutámico pirúvica por el método colorimétrico de Reitman y Frankel; fosfatasa alcalina sérica por el método colorimétrico de Bessey, Lowry y Brock; bilirrubina total y Directa por Evelyn-Malloy, la bilirrubina indirecta se determinó por la diferencia de la bilirrubina total menos la bilirrubina directa; proteínas totales y albúmina por el método de Biuret; las globulinas se determinaron por la diferencia de las proteínas totales menos la albúmina.

Biometría hemática.- Los parámetros a evaluar en la biometría hemática fueron: conteo de glóbulos rojos y blancos, hemoglobina, hematocrito, los índices de Wintrobe: volumen globular medio

( VGM ), concentración de hemoglobina globular media ( CHGM ), hemoglobina globular media ( HGM ) y conteo diferencial de leucocitos; se determinaron por las siguientes técnicas: Conteo de globulos rojos y blancos por la técnica de hemocitómetro; hemoglobina por la técnica de cianometahemoglobina; hematocrito por la técnica de microhematocrito; los índices de Wintrobe se determinaron por fórmula. el conteo diferencial fué a 100 leucocitos diferenciando entre ( linfocito, monocito, neutrófilo segmentado, neutrófilo en banda, eosinófilos y basófilos ).

Histopatología.- Las muestras histopatológicas se fijaron con formol al 10 %, posteriormente se procesaron por la técnica de inclusión en parafina, se efectuaron cortes de 3 micras de grosor y se colorearon con la técnica de rutina hematoxilina y eosina ( H.E. ) ( 18 ). Para su evaluación se visualizaron 10 campos por laminilla a 400 X. reportando por cada campo las alteraciones observadas como congestión, necrosis, vacuolización, pigmentación, infiltrados y fibrosis ( 60 ); dándoseles a cada una un valor porcentual, haciendo un promedio por individuo y después por grupo: dando resultados cualitativos por grupo experimental dependiendo de su valor porcentual de la siguiente manera:

25 porciento .....	Leve.
50 porciento .....	Moderada.
75 porciento .....	Severa.

Todas las pruebas se realizaron en el laboratorio Diagnostico Integral Veterinario ( DIVET ).

#### ANALISIS ESTADISTICO

Para los resultados en el panel de pruebas de funcionamiento hepático y biometria hemática se procedió a realizar para cada uno de los valores un análisis varianza factorial  $2 \times 2$ , el cual mide dos factores, uno el tratamiento y otro el tiempo, con tres niveles cada factor siendo para el tratamiento: tetracloruro de carbono, tetracloruro de carbono más silimarina y sólo silimarina; para el tiempo 0, 24 y 120 horas.

Posteriormente a los resultados en los cuales se encontró una significancia estadística se les realizó la prueba de Tukey, la cual evalúa pares de medias determinando de esta manera cual de los grupos es más significativo de los tres, en cuanto al tratamiento y tiempo.

## RESULTADOS

### PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO HEPATICO:

Los resultados por grupo de la transaminasa glutámico pirúvica ( gráfica 1 ) se reportan en base a su comportamiento a través del tiempo y el tratamiento ( ANDEVA  $p < 0.01$ , Tabla 3 ) donde en el grupo al que se le administró tetracloruro de carbono fué estadísticamente diferente ( Tukey, Tabla 4 ) mostrando un aumento a las 24 horas, sobrepasando los intervalos normales ( Tabla 1 ) y decae un poco a las 120 horas; mientras que en los grupos en los cuales se administró tetracloruro de carbono más silimarina y sólo silimarina, no existió alteración en sus valores, observandose una distribución lineal.

Los resultados por grupos de fosfatasa alcalina serica ( gráfica 2 ) tuvieron un efecto significativo en el tiempo y el tratamiento ( ANDEVA Tabla 3,  $p < 0.01$  ) donde en el grupo al que se administró tetracloruro de carbono fué estadísticamente diferente ( Tukey Tabla 4 ) teniendo un aumento a las 24 horas que continuó hasta las 120 horas, sin sobrepasar los valores normales ( Tabla 1 ). en los grupos donde se administró Tetracloruro de carbono más Silimarina y sólo Silimarina no se encontró diferencia significativa entre ellos, ni sobrepasaron los intervalos normales.

Los resultados por grupo de bilirrubina total ( gráfica 3 ) mostraron una diferencia significativa ( ANDEVA, Tabla 3.

$p < 0.01$  ) para el tratamiento pero no para el tiempo; donde al grupo que se le administró tetracloruro de carbono fue estadísticamente diferente ( Tukey, Tabla 4 ) mostrando un descenso a las 24 horas y un aumento a las 120 horas que sobrepasó el intervalo normal ( Tabla 1 ). en el grupo al cual se le dió tetracloruro de carbono más silimarina, se observó una distribución similar, aunque sus valores fueron menores al igual que los observados para el grupo al que se le administró sólo silimarina; no se observó una diferencia significativa en estos grupos.

Los resultados por grupo de bilirrubina directa ( gráfica 4 ) mostraron una diferencia significativa ( ANDEVA, Tabla 3,  $p < 0.01$  ) en cuanto al tratamiento pero no en cuanto al tiempo, donde el grupo al cual se le administró silimarina fue estadísticamente diferente ( Tukey, Tabla 4 ), mostrando un descenso a las 24 horas y un aumento a las 120 horas sin sobrepasar el intervalo normal ( Tabla 1 ) mientras que en los grupos donde se administró tetracloruro de carbono más silimarina y sólo tetracloruro de carbono, su distribución fue similar pero con menores aumentos; no existió diferencia significativa entre los grupos.

Los resultados por grupo de bilirrubina indirecta ( gráfica 5 ) mostraron una diferencia significativa ( ANDEVA, Tabla 3,  $p < 0.01$  ) para el tratamiento pero no para el tiempo; donde en

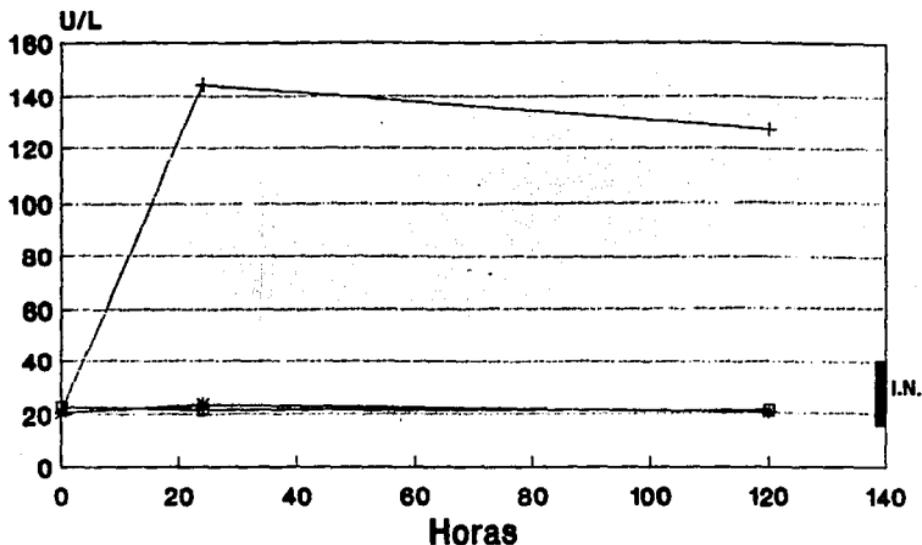
el grupo al que se le administró tetracloruro de carbono fue estadísticamente diferente ( Tukey, Tabla 4 ) mostrando un descenso a las 24 horas y un aumento a las 120 horas, sin sobrepasar el intervalo normal ( Tabla 1 ). mientras que al grupo al que se le administró tetracloruro de carbono más silimarina tuvo una distribución similar pero no significativa ( Tukey Tabla 4 ) y en el grupo de Silimarina su distribución fue lineal.

Los resultados por grupo de las proteínas ( gráfica 6 ) no tienen una diferencia significativa en cuanto al tiempo ni en cuanto al tratamiento; y sólo en el grupo donde se administró tetracloruro de carbono más silimarina se observó un ligero descenso de sus valores a las 120 horas; en los grupos donde se administró tetracloruro de carbono más silimarina y sólo silimarina, sus valores se observaron dentro del intervalo normal ( Tabla 2 ).

Los resultados para la albúmina ( gráfica 7 ) no tiene una diferencia significativa en cuanto al tiempo ni en cuanto al tratamiento, se observó que los resultados estaban por debajo del intervalo normal ( Tabla 1 ). en los tres grupos.

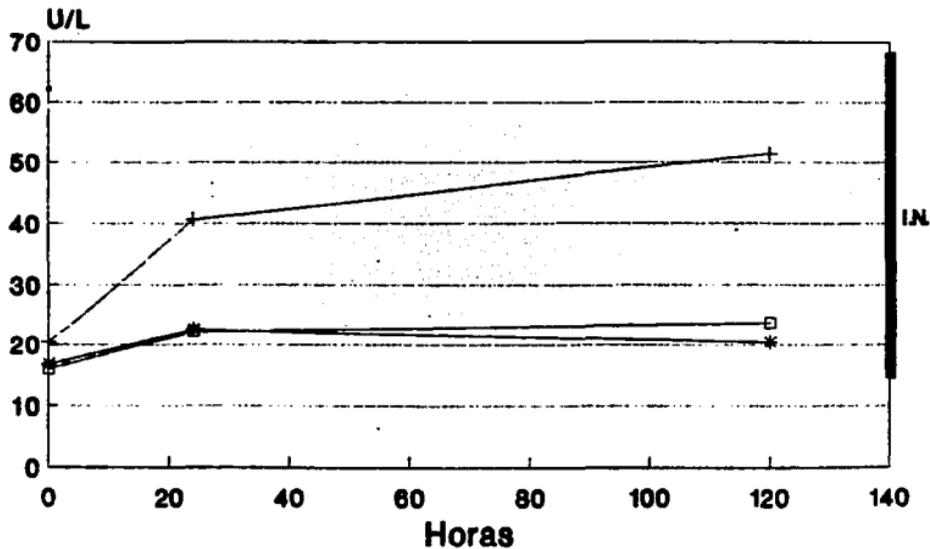
Los resultados por grupo para las globulinas ( gráfica 8 ) no tuvieron un efecto significativo ( ANDEVA, Tabla 3 ). para el tiempo ni para el tratamiento y sólo se observó que el grupo donde se administró tetracloruro de carbono, sobrepasó el intervalo normal hacia las 120 horas ( Tabla 1 ).

**GRAFICA 1.-VALORES PROMEDIO DE TRANSAMINASA GLUTAMICO  
PIRUVICA SERICA DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



**Tratamiento:** + CCL4    \* CCL4+Sillimarina    □ Sillimarina  
**CCL4-** Tetracloruro de carbono.    **Técnica empleada-** Colorimétrica de Reitman y Frankel.  
**I.N.-**Intervalo Normal.    **Cada grupo se integró por 9 animales.**

**GRAFICA 2.-VALORES PROMEDIO DE FOSFATASA ALCALINA SERICA DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**

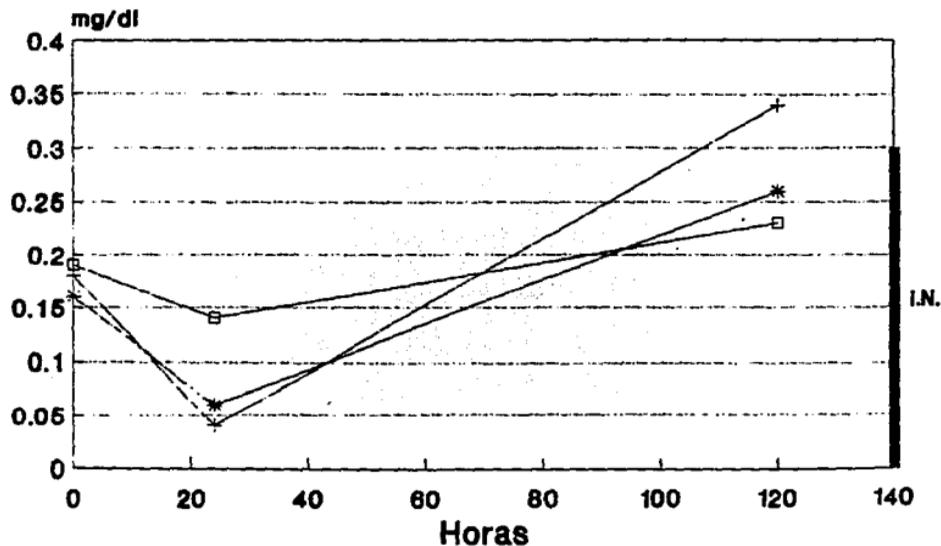


30

Tratamiento: + CCL4    \* CCL4+Silymarina    -□ Silymarina  
 CCL4= Tetracloruro de carbono.  
 I.N.-Intervalo Normal.

Técnica empleada=Colorimétrica Bessey,  
 Lowry y Brook.  
 Cada grupo se integró por 9 animales.

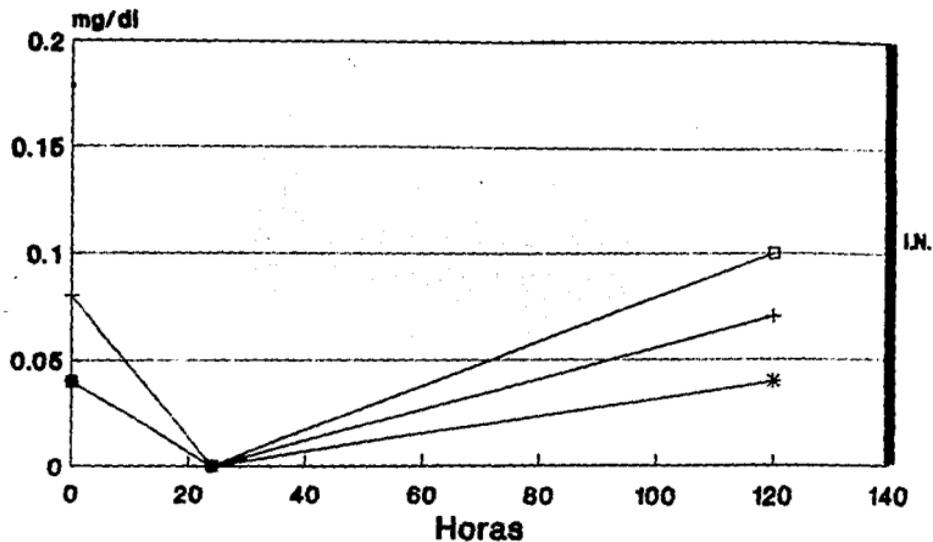
**GRAFICA 3.-VALORES PROMEDIO DE BILIRRUBINA TOTAL SERICA EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



Tratamiento: + CCL4    \* CCL4+Sillimarina    □ Sillimarina  
 CCL4= Tetracloruro de carbono.  
 I.N.-Intervalo Normal.

Técnica empleada: Evelyn-Malloy.  
 Cada grupo se integró por 9 animales.

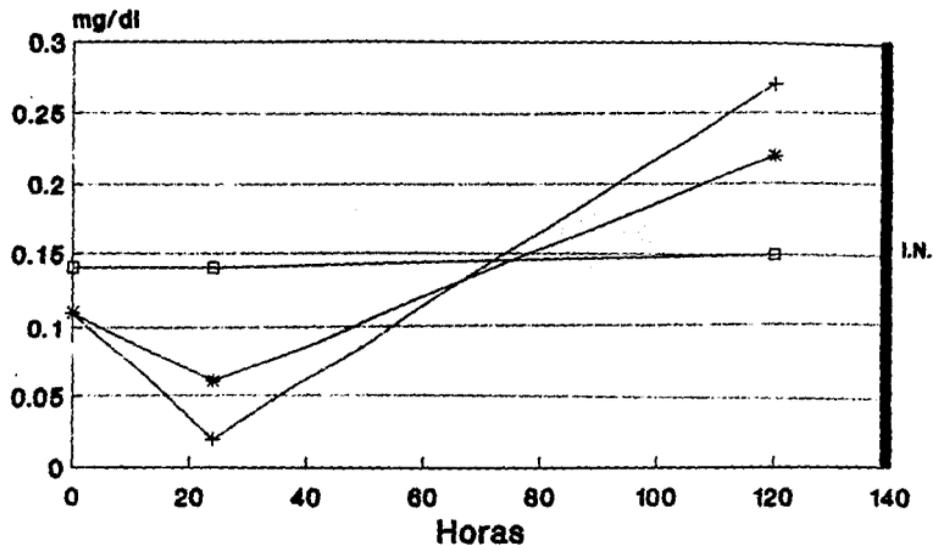
**GRAFICA 4.- VALORES PROMEDIO DE BILIRRUBINA DIRECTA SERICA EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



Tratamiento: + CCL4 \* CCL4+Sillimarina □ Sillimarina  
 CCL4- Tetracloruro de carbono.  
 I.N.-Intervalo Normal.

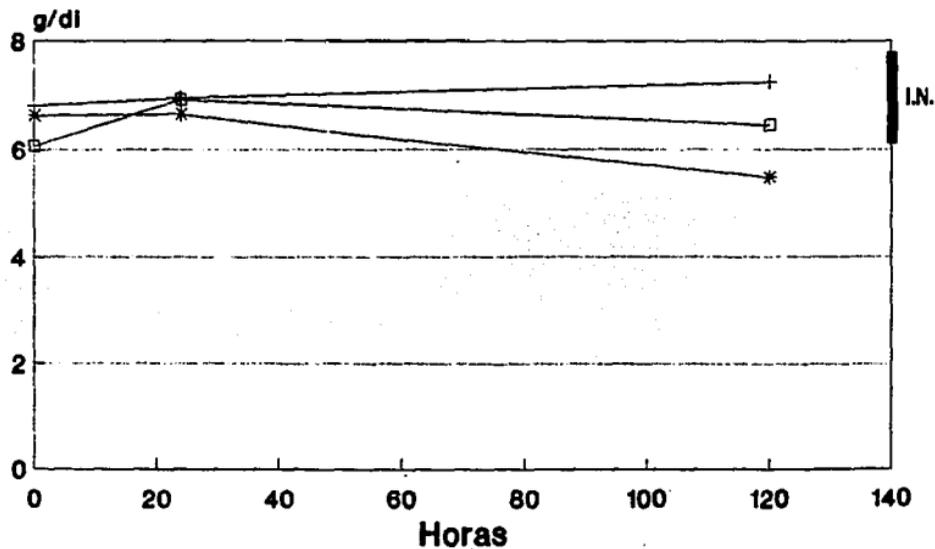
Técnica empleada- Evelyn-Malloy.  
 Cada grupo se integró por 9 animales.

**GRAFICA 5.-VALORES PROMEDIO DE BILIRRUBINA INDIRECTA SERICA EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



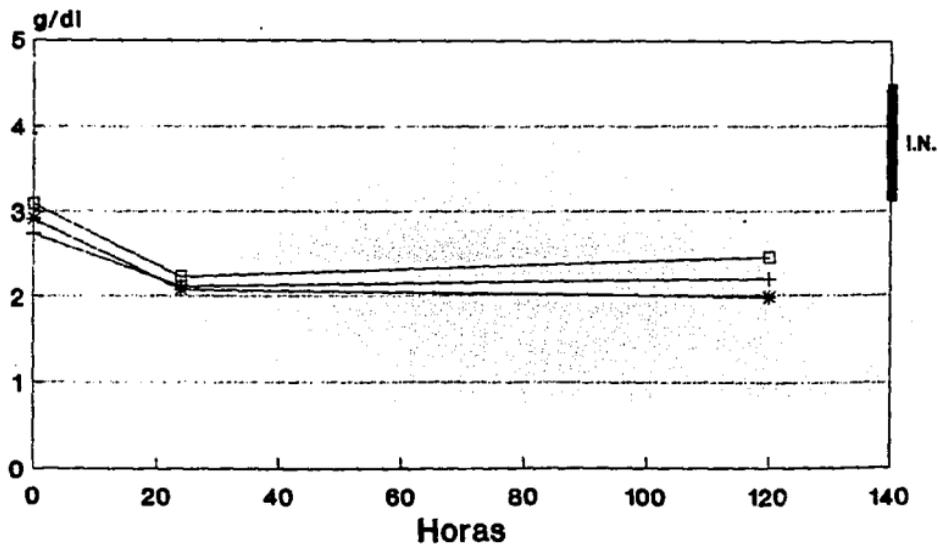
Tratamiento: —+— CCL4    —\*— CCL4+Silimarina    —□— Silimarina  
 CCL4= Tetracloruro de carbono.    Cada grupo se integró por 9 animales.  
 I.N.=intervalo Normal.

**GRAFICA 6.- VALORES PROMEDIO DE PROTEINAS TOTALES SERICAS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



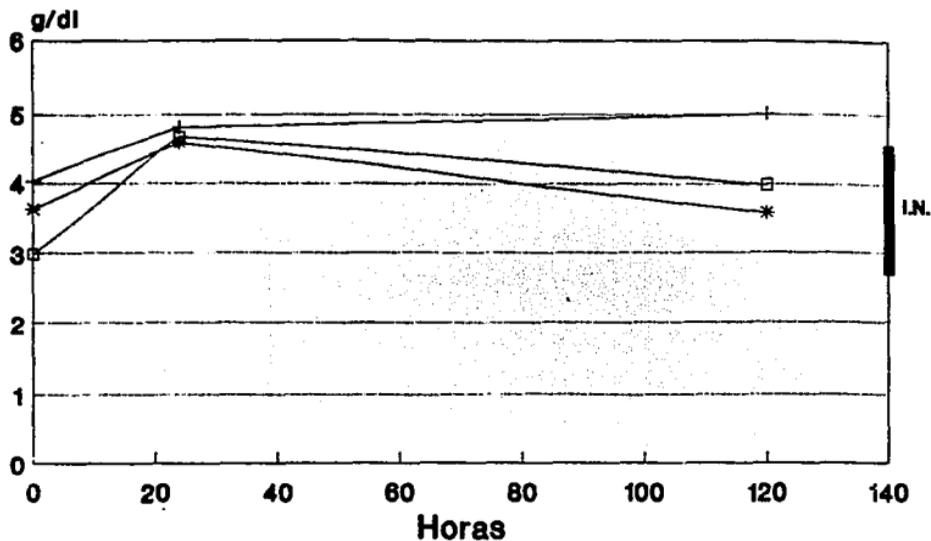
Tratamiento: + CCL4    \* CCL4+Silimarina    □ Silimarina  
 CCL4= Tetracloruro de carbono.    Técnica empleada= Biuret.  
 I.N.=Intervalo Normal.    Cada grupo se integró por 9 animales.

**GRAFICA 7.-VALORES PROMEDIO DE ALBUMINA SERICA  
EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



Tratamiento: —+— CCL4    \*— CCL4+Silymarina    —□— Silymarina  
 CCL4= Tetracloruro de carbono.    Técnica empleada= Biuret.  
 I.N.-Intervalo Normal.    Cada grupo experimental se integró por 9 animales.

**GRAFICA 8.-VALORES PROMEDIO DE GLOBULINAS SERICAS  
EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



Tratamiento: + CCL4    \* CCL4+Sillimarina    □ Sillimarina

CCL4- Tetracloruro de carbono.  
I.N.-Intervalo Normal.

Cada grupo se integró por 9 animales.

## BIOMETRIA HEMATICA:

Los resultados obtenidos de biometria hemática con respecto a la fórmula roja : eritrocitos, hemoglobina, hematocrito, volumen globular medio ( VGM ), concentración de hemoglobina globular media ( CHGM ), hemoglobina globular media ( HGM ); se reportan de las gráficas 9 a la 14 respectivamente; no se observó un efecto significativo en cuanto al tiempo ni en cuanto al tratamiento. los resultados obtenidos para los glóbulos rojos y concentración de hemoglobina globular media, estaban por debajo de los intervalos normales. los resultados para la hemoglobina, hematocrito, volumen globular medio, estaban dentro de los intervalos normales.

Para la fórmula blanca los resultados fueron los siguientes: En los glóbulos blancos ( gráfica 15 ) se observó una diferencia significativa ( ANDEVA. Tabla 3 p <0.05 ) en cuanto al tratamiento, pero no en cuanto al tiempo; siendo el grupo donde se administró tetracloruro de carbono el significativamente diferente a las 120 horas ( Tukey. Tabla 4 ) aunque este grupo sobrepasó el intervalo normal ( Tabla 2 ) desde las 24 horas; el grupo al que se le administró tetracloruro de carbono más silimarina, también sobrepasó el intervalo normal ( Tabla 2 ) a las 24 horas, pero no así a las 120 horas y en el grupo al que se le dió sólo silimarina su distribución fue lineal a las 24 horas descendiendo un poco a las 120 horas, encontrandose dentro del

intervalo normal ( Tabla 2 ).

Los linfocitos ( gráfica 16 ) no tuvieron un efecto significativo en cuanto al tiempo ni en cuanto al tratamiento: observandose que los resultados obtenidos para los tres grupos se encontraban dentro del intervalo normal ( Tabla 2 ).

Los monocitos ( gráfica 17 ), no tuvieron un efecto significativo en cuanto al tiempo ni en cuanto al tratamiento: observandose que los resultados obtenidos para los tres grupos se encontraban por debajo del intervalo normal ( Tabla 2 ).

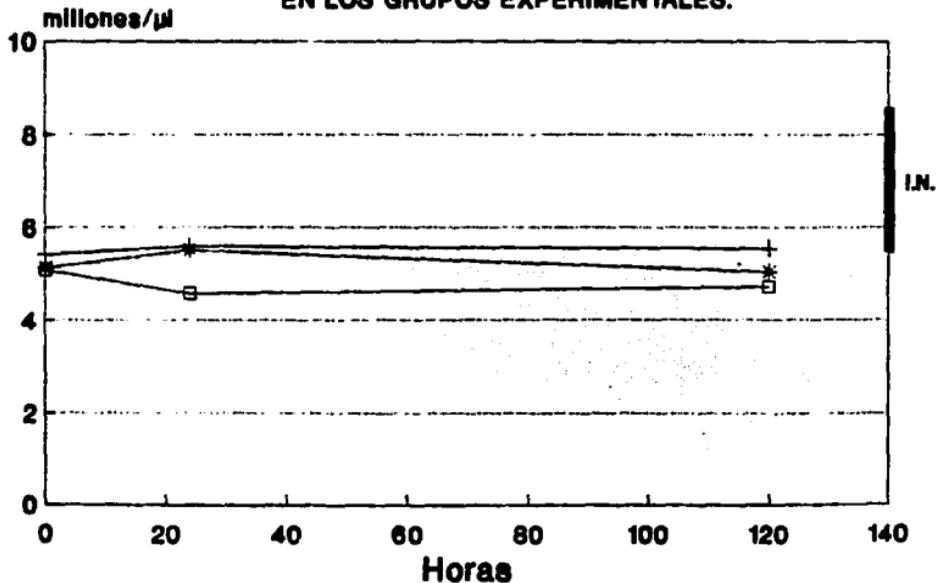
Los valores de neutrófilos segmentados ( gráfica 18 ) no tuvieron un efecto significativo en cuanto al tratamiento ni en cuanto al tiempo, mostrando que en el grupo donde se administró tetracloruro de carbono, se observó un aumento a las 24 horas, que sobrepasó el intervalo normal ( Tabla 2 ) y a las 120 horas hubo una disminución que se encontró dentro del intervalo normal, se observó lo mismo en el grupo al que se le dio tetracloruro de carbono más silimarina, sólo que su aumento fue menor sin sobrepasar el intervalo normal ( Tabla 2 ) y en el grupo donde se administró sólo silimarina su distribución fue casi lineal.

Los valores para los neutrófilos en banda ( gráfica 19 ) mostraron un efecto significativo en cuanto al tratamiento ( ANDEVA  $p < 0.01$ , Tabla 3 ), pero no en cuanto al tiempo siendo el grupo al que se administró tetracloruro de carbono el estadísticamente diferente ( Tukey, Tabla 4 ), el grupo mostró un

aumento a las 24 horas y una ligera baja a las 120 horas, aunque sus valores se encontraron dentro del intervalo normal ( Tabla 2 ), el grupo al que se le administró tetracloruro de carbono más silimarina tuvo un aumento a las 24 y así siguió el aumento hasta las 120 horas, en el grupo al que se le administró sólo silimarina se observó que tuvo un aumento a las 24 horas y una disminución a las 120 horas, en los dos últimos grupos los valores no fueron significativos ni sobrepasaron el intervalo normal ( Tabla 2 ).

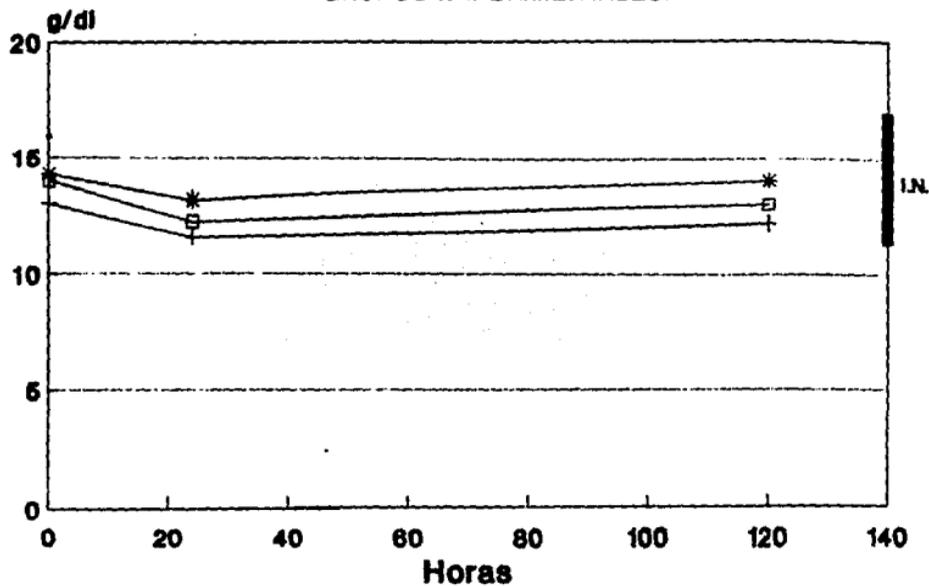
Los valores de eosinófilos ( gráfica 20 ) tuvieron un efecto significativo ( ANDEVA, Tabla 3 p <0.01 ) en cuanto al tratamiento pero no en cuanto al tiempo, siendo el grupo al que se le administró sólo silimarina significativamente diferente ( Tukey, Tabla 4 ), se observó una elevación a las 24 horas y un aumento mayor a las 120 horas que sobrepasó el intervalo normal ( Tabla 2 ), en el grupo al que se le dió tetracloruro de carbono más silimarina sus valores también aumentaron, pero sin sobrepasar el intervalo normal ( Tabla 2 ) y en el grupo donde se administró tetracloruro de carbono sus valores fueron normales ( Tabla 2 ).

**GRAFICA 9.- VALORES PROMEDIO DE GLOBULOS ROJOS  
EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



Tratamiento: + CCL4    \* CCL4+Silimarina    □ Silimarina  
 CCL4= Tetracloruro de carbono.      Cada grupo se integró por 9 animales.  
 I.N.=Intervalo Normal.

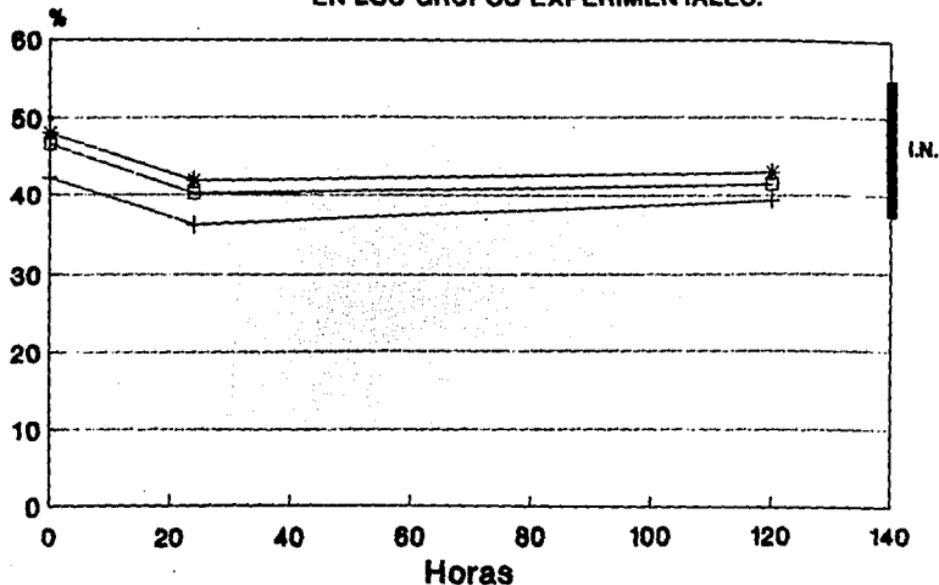
**GRAFICA 10.-VALORES PROMEDIO DE HEMOGLOBINA  
GRUPOS EXPERIMENTALES.**



Tratamiento: + CCL4    \* CCL4+Silimarina  
 CCL4- Tetracloruro de carbono.  
 I.N.-Intervalo Normal.

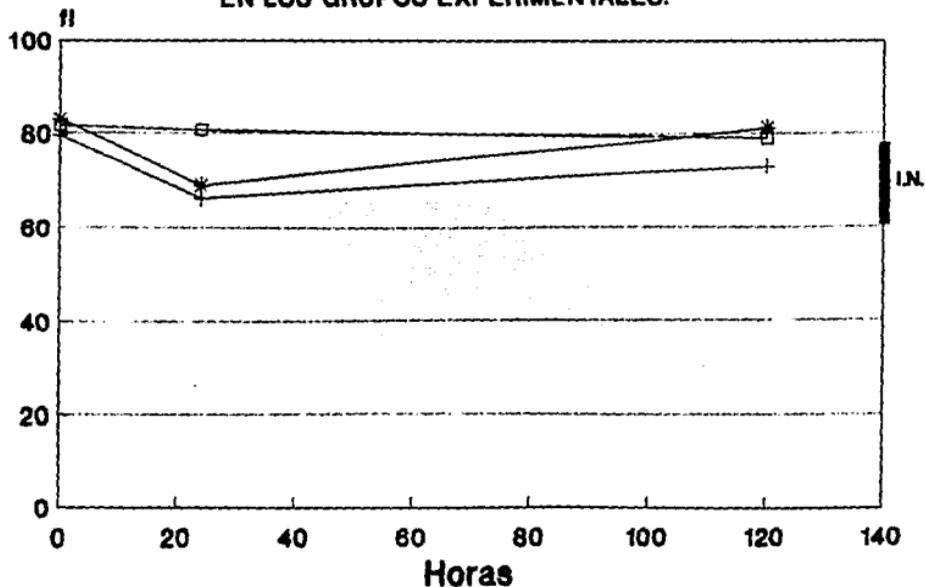
□ Silimarina  
 Cada grupo se integró por 9 animales.

**GRAFICA 11.-VALORES PROMEDIO DEL HEMATOCRITO  
EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



Tratamiento: + CCL4    \* CCL4+Silimarina    □ Silimarina  
 CCL4- Tetracloruro de carbono.    Cada grupo se integró por 9 animales.  
 I.N.-intervalo Normal.

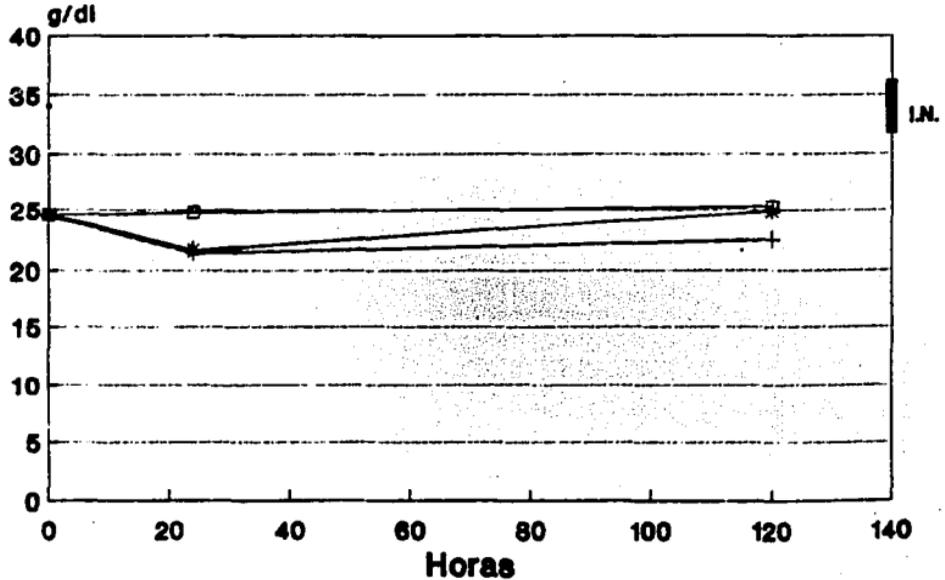
**GRAFICA 12.-VALORES PROMEDIO DEL VOLUMEN GLOBULAR MEDIO EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



Tratamiento: + CCL4  
 CCL4= Tetracloruro de carbono.  
 I.N.-Intervalo Normal.

\* CCL4+Sillimarina  
 -□- Sillimarina  
 Cada grupo se integró por 9 animales.

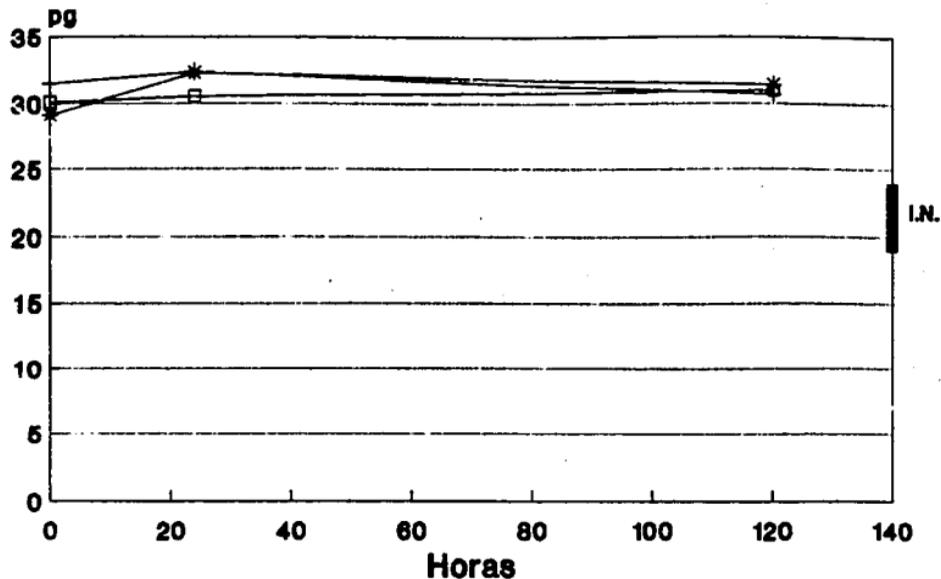
**GRAFICA 13.-VALORES PROMEDIO DE LA CONCENTRACION DE HEMOGLOBINA GLOBULAR MEDIA EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



Tratamiento: + CCL4 \* CCL4+Sillimarina □ Sillimarina  
CCL4= Tetracloruro de carbono.  
I.N.-Intervalo Normal.

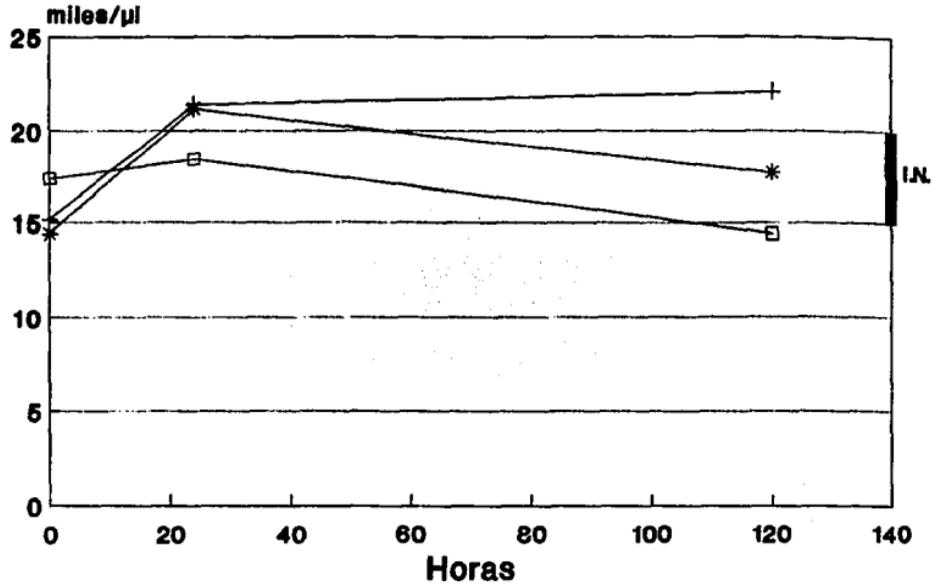
Cada grupo se integró por 9 animales.

**GRAFICA 14.-VALORES PROMEDIO DE LA HEMOGLOBINA GLOBULAR  
MEDIA EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



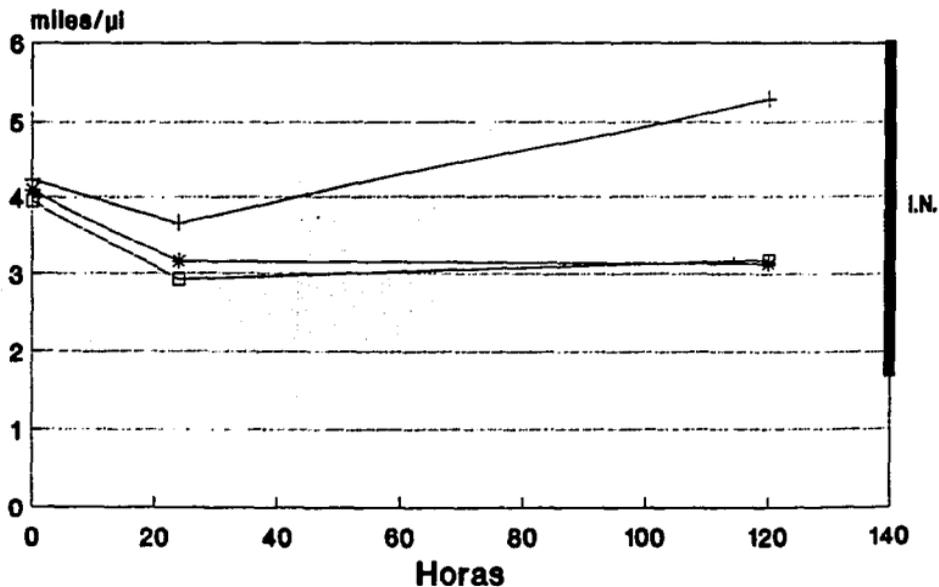
Tratamiento: —+— CCL4    —\*— CCL4+Silymarina    —□— Silymarina  
 CCL4- Tetracloruro de carbono.      Cada grupo se integró por 9 animales.  
 I.N.-Intervalo Normal.

**GRAFICA 15.-VALORES PROMEDIO DE GLOBULOS BLANCOS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



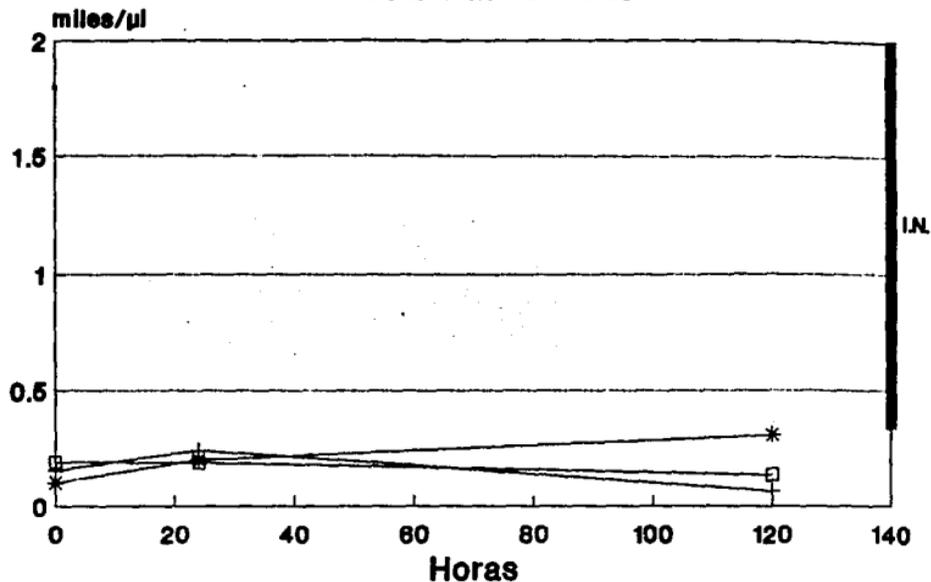
**Tratamiento:** + CCL4    \* CCL4+Silimarina    □ Silimarina  
 CCL4- Tetracloruro de carbono.      Cada grupo se integró por 9 animales.  
 I.N.-Intervalo Normal.

**GRAFICA 16.-VALORES PROMEDIO DE LINFOCITOS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



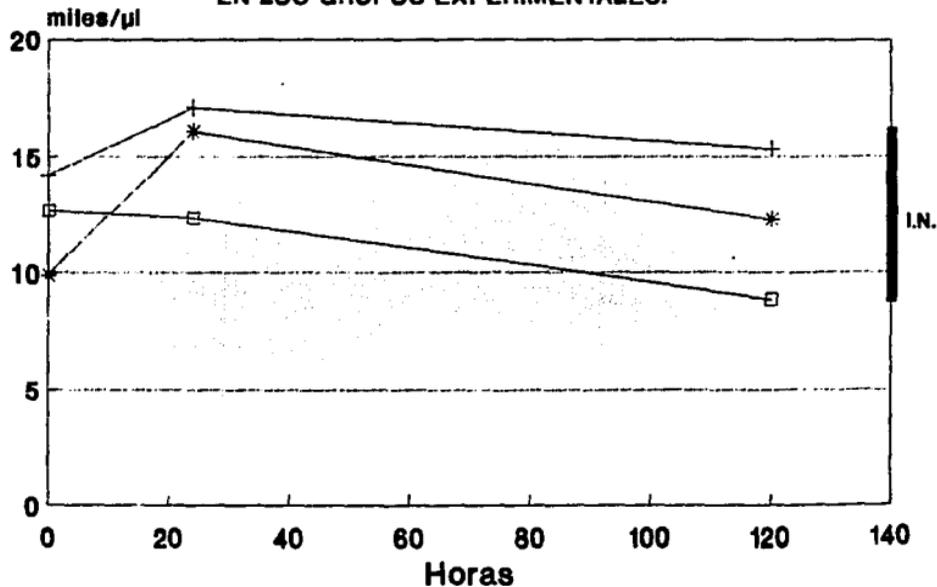
**Tratamiento:** + CCL4   \* CCL4+Silimarina   □ Silimarina  
 CCL4= Tetracloruro de carbono.   Cada grupo se Integró por 9 animales.  
 I.N.=Intervalo Normal.

**GRAFICA 17.-VALORES PROMEDIO DE MONOCITOS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



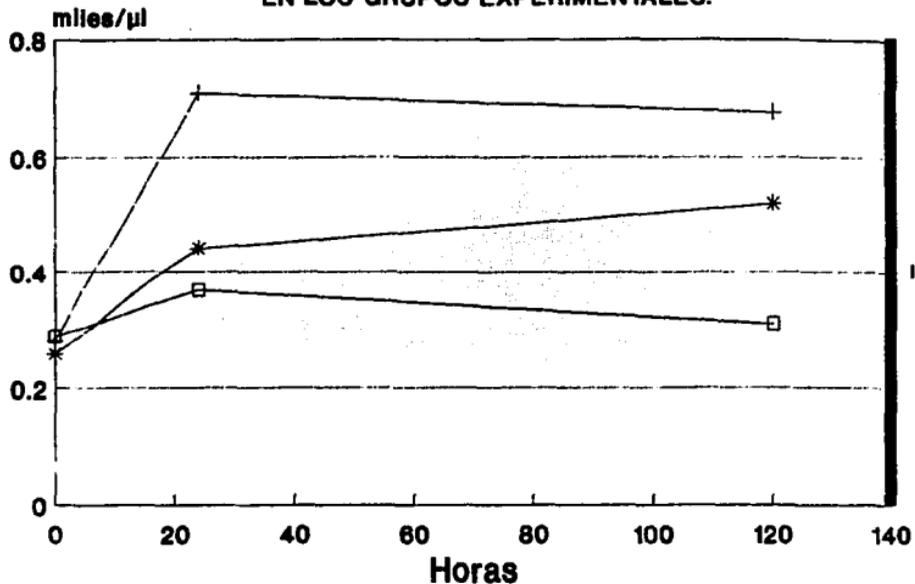
Tratamiento: —+— CCL4    \*— CCL4+Silimarina    —□— Silimarina  
CCL4= Tetracloruro de carbono.    Cada grupo se integró por 9 animales.  
I.N.-Intervalo Normal.

**GRAFICA 18.-VALORES PROMEDIO DE NEUTROFILOS SEGMENTADOS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



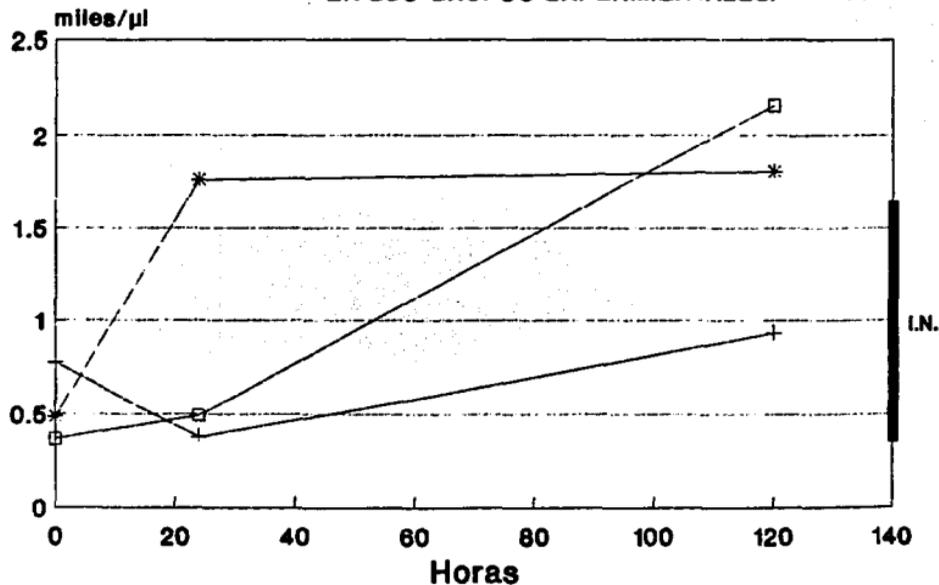
Tratamiento: + CCL4    \* CCL4+Sillimarina    □ Sillimarina  
 CCL4= Tetracloruro de carbono.      Cada grupo se integró por 9 animales.  
 I.N.-Intervalo Normal.

**GRAFICA 19.-VALORES PROMEDIO DE NEUTROFILOS EN BANDA EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



**Tratamiento:** + CCL4    \* CCL4+Silimarina    □ Silimarina  
 CCL4- Tetracloruro de carbono.      Cada grupo se integró por 9 animales.  
 I.N.-Intervalo Normal.

**GRAFICA 20.-VALORES PROMEDIO DE EOSINOFILOS  
EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



Tratamiento: + CCL4 \* CCL4+Silimarina □ Silimarina  
 CCL4= Tetracloruro de carbono. Cada grupo se integró por 9 animales.  
 I.N.=Intervalo Normal.

## HISTOPATOLOGIA:

Los resultados obtenidos demostraron en lo que respecta a la congestión ( gráfica 21 ) que en el grupo al que se le administró tetracloruro de carbono fué grave. en el grupo de tetracloruro de carbono más silimarina fué moderada. y en el grupo de silimarina fué leve.

Los resultados en cuanto a la degeneración ( gráfica 22 ) fueron en el grupo de tetracloruro de carbono moderados. en el grupo de tetracloruro más silimarina moderados y en el grupo de silimarina leves.

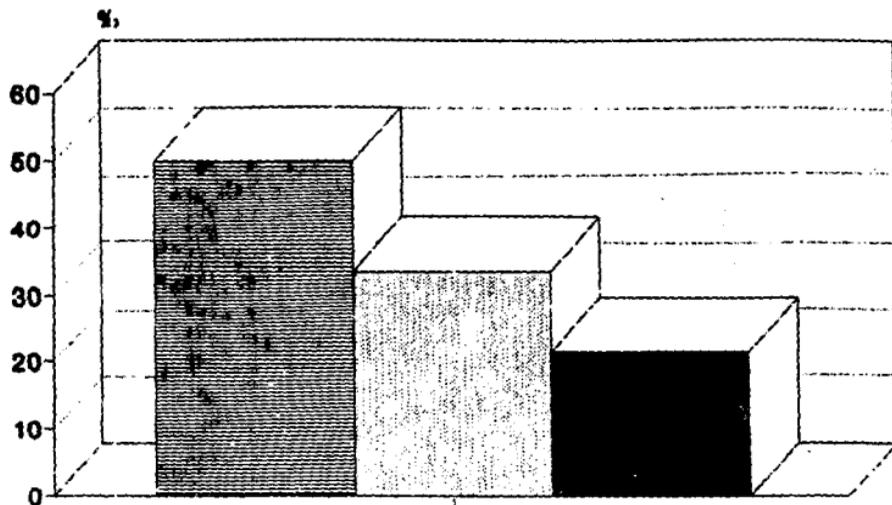
Los resultados de necrosis ( gráfica 23 ) en el grupo de tetracloruro de carbono fueron moderados en el de tetracloruro de carbono más silimarina leve y en el grupo de silimarina nulos.

En cuanto a la pigmentación ( gráfica 24 ) en el grupo de tetracloruro de carbono fué moderada. en el grupo de tetracloruro de carbono más silimarina fué leve y en el grupo de silimarina nulo.

Los infiltrados mononucleares ( gráfica 25 ) en el grupo de tetracloruro de carbono fueron leves y en los otros dos grupos fueron nulos.

En la fibrosis ( gráfica 26 ) sólo el grupo de tetracloruro de carbono se presentó como leve y en los otros dos grupos fué nula.

**GRAFICA 21.-PORCENTAJE DE CONGESTION EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**

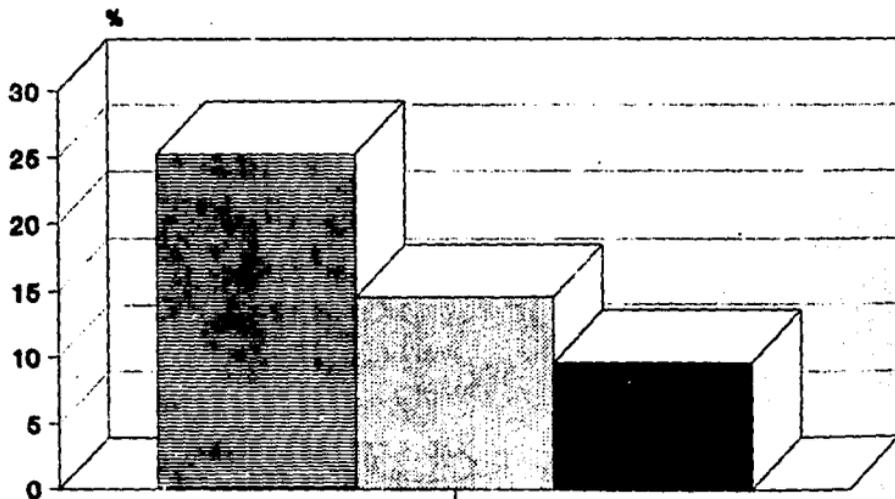


**Tratamiento:**  CCL4  CCL4+Silymarina  Silymarina

CCL4 Tetracloruro de carbono.

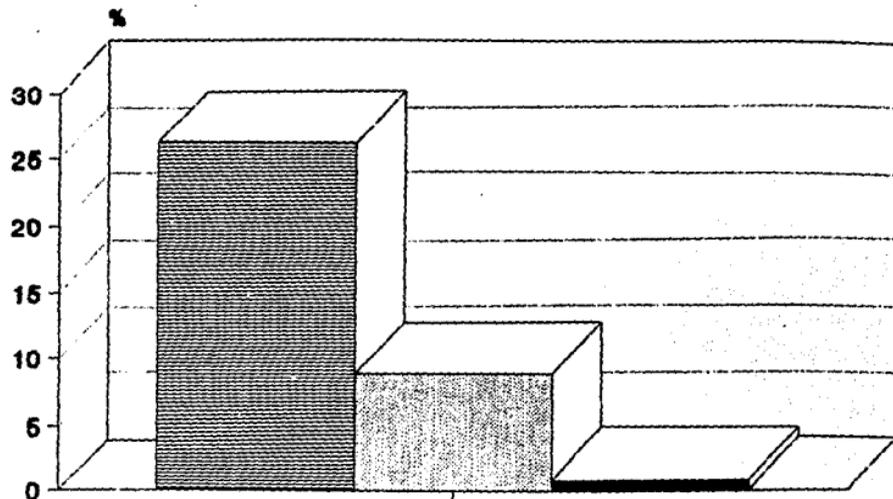
Cada grupo se integró por 9 animales.

**GRAFICA 22.-PORCENTAJE DE VACUOLIZACION EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



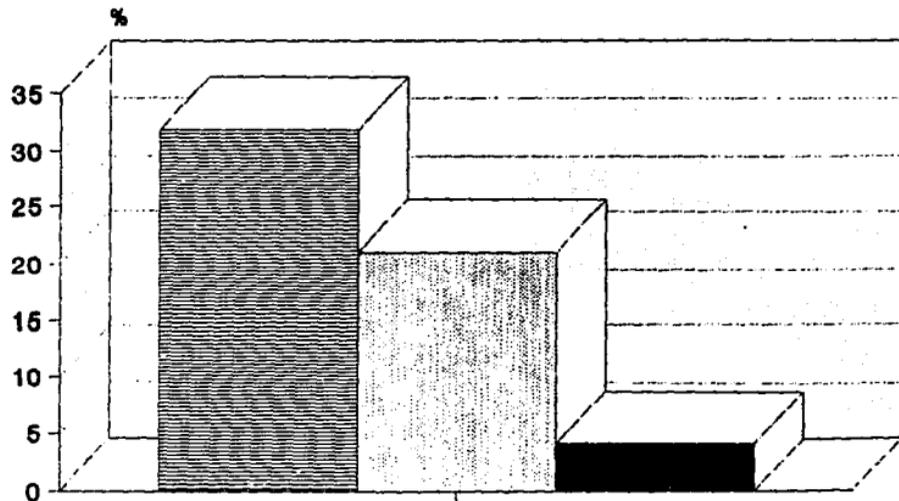
Tratamiento:  CCL4     CCL4+Silymarina     Silymarina  
CCL4= Tetracloruro de carbono.  
Cada grupo se integró por 9 animales.

**GRAFICA 23.-PORCENTAJE DE NECROSIS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



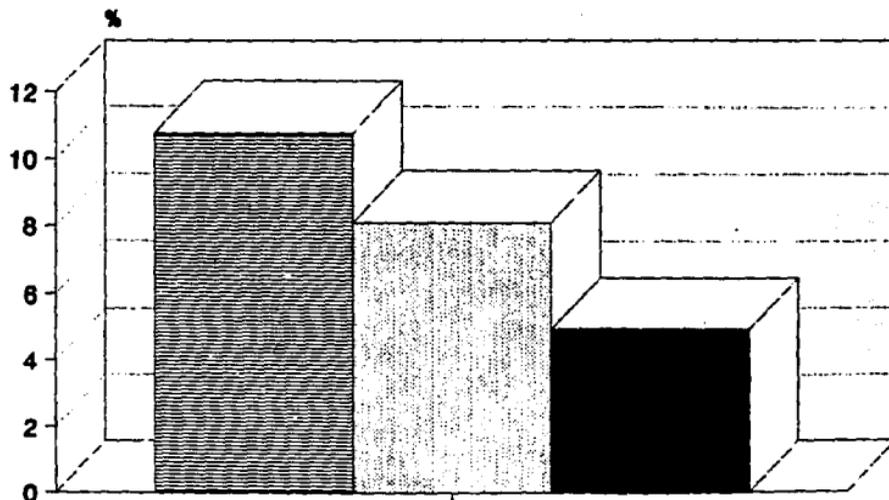
Tratamiento:  CCL4  CCL4+Silymarina  Silymarina  
CCL4- Tetractoruro de carbono.  
Cada grupo se integró por 9 animales.

**GRAFICA 24.-PORCENTAJE DE PIGMENTACION EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



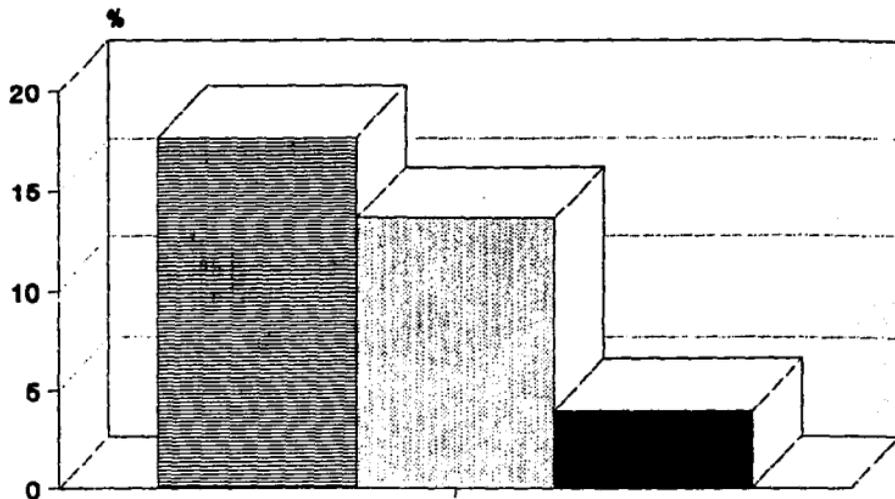
Tratamiento:  CCL4  CCL4+Sillmarina  Sillmarina  
CCL4= Tetracloruro de carbono.  
Cada grupo se integró por 9 animales.

**GRAFICA 25.-PORCENTAJE DE INFILTRADOS MONONUCLEARES EN  
LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



**Tratamiento:**  **CCL4**  **CCL4+Silymarina**  **Silymarina**  
**CCL4= Tetracloruro de carbono.**  
**Cada grupo se integró por 9 animales.**

**GRAFICA 26.-PORCENTAJE DE FIBROSIS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**



**Tratamiento:**  CCL4     CCL4+Sillmarina     Sillmarina  
CCL4= Tetracloruro de carbono.  
Cada grupo se integró por 9 animales.

**TABLA 1.- INTERVALOS NORMALES**

**FUNCIONAMIENTO HEPATICO**

	VALORES NORMALES
TRANSAMINASA GLUTAMICO PIRUVICA	17.0 - 40.0 U/l
FOSFATASA ALCALINA SERICA	15.0 - 69.0 U/l
BILIRRUBINA TOTAL	0.0 - 0.3 mg/dl
BILIRRUBINA DIRECTA	0.0 - 0.2 mg/dl
BILIRRUBINA INDIRECTA	0.0 - 0.3 mg/dl
PROTEINAS SERICAS TOTALES	6.1 - 7.8 g/dl
ALBUMINA	3.1 - 4.4 g/dl
GLOBULINAS	2.7 - 4.4 g/dl

Estos valores normales fueron calculados en base a las técnicas empleadas en el laboratorio DIVET.

TABLA 2.- INTERVALOS NORMALES

BIOMETRIA HEMATICA

FORMULA ROJA

	VALORES NORMALES
ERITROCITOS	5.5 - 8.5 Millones por mm <sup>3</sup>
HEMOGLOBINA	12.0 - 17.5 g/dl
HEMATOCRITO	37.0 - 55.0 %
VOLUMEN GLOBULAR MEDIO ( V.G.M. )	60.0 - 77.0 fl
CONCENTRACION DE HEMOGLOBINA	
GLOBULAR MEDIA ( C.H.G.M. )	32.0 - 36.0 g/dl
HEMOGLOBINA GLOBULAR MEDIA ( H.G.M. )	19.5 - 24.5 pg

FORMULA BLANCA

	VALORES RELATIVOS	VALORES ABSOLUTOS
LEUCOCITOS		15.0 - 20.0 mil/mm <sup>3</sup>
LINFOCITOS	12 - 30 %	1.8 - 6.0 mil/mm <sup>3</sup>
MONOCITOS	2 - 10 %	0.3 - 2.0 mil/mm <sup>3</sup>
NEUTROFILOS SEGMENTADOS	50 - 80 %	9.0 - 16.0 mil/mm <sup>3</sup>
NEUTROFILOS EN PANDA	0 - 4 %	0.0 - 0.8 mil/mm <sup>3</sup>
EOSINOFILOS	2 - 8 %	0.3 - 1.6 mil/mm <sup>3</sup>
BASOFILOS	0 - 1 %	0.0 - 0.2 mil/mm <sup>3</sup>

Estos valores normales fueron calculados en base a las técnicas empleadas por el laboratorio DIVET.

TABLA 3.- ANDEVA 2X2

FUNCIONAMIENTO HEPATICO

PRUEBA	TGP	FAS	BT	BD	BI	GB
TIEMPO	17.48	3.91	0.33	0.62	2.24	1.58
TRATAMIENTO	81.72	10.64	9.42	5.04	5.19	2.44

TGP: Transaminasa Glutámico Pirúvica. BD: Bilirrubina Directa.

FAS: Fosfatasa Alcalina Sérica. BI: Bilirrubina Indirecta.

BT : Bilirrubina Total.

GB: Globulinas.

BIOMETRIA HEMATICA

PRUEBA	GB	NB	E
TIEMPO	1.10	2.10	2.12
TRATAMIENTO	3.59	3.80	9.07

GB: Glóbulos Blancos.

NB: Neutrófilos en Banda.

E : Eosinófilos.

p < 0.01 > 3.65

p < 0.05 > 2.53 ( 11. 12. 53 )

TABLA 4.- PRUEBA DE TUKEY

<u>FUNCIONAMIENTO HEPATICO</u>				<u>BIOMETRIA HEMATICA</u>		
Transaminasa Glutámico Pirúvica.				Glóbulos blancos.		
Tratamiento	T	T + S	S	T	T + S	S
Tiempo ( h )						
24	B	A	A	B	A	A
120	B	A	A	A	A	A
Fosfatasa Alcalina				Sérica.		
24	B	A	A	Neutrófilos en banda		
120	B	A	A	A	A	A
Bilirrubina Total.				Eosinófilos.		
24	A	A	A	A	A	A
120	B	A	A	A	A	B
Bilirrubina Directa.						
24	A	A	A			
120	A	A	B			
Bilirrubina Indirecta.						
24	A	A	A			
120	B	A	A			

T = Tetracloruro de carbono; T + S = Tetracloruro de carbono más silimarina.  
S = Silimarina

Letras desiguales tienen diferencia significativa entre las medias y letras iguales no tienen diferencia significativa entre las medias ( 33, 53 ).

## DISCUSION

### PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO HEPATICO:

Con base en los resultados obtenidos en las pruebas de laboratorio de funcionamiento hepático, podemos deducir que la silimarina ( Silybium marianum ), si constituye una nueva opción para la terapia de alteraciones hepáticas provocadas por la intoxicación con tetracloruro de carbono.

Lo anterior se puede observar por las diferencias tan significativas entre los valores para: transaminasa glutámico pirúvica, en donde el grupo al que se le administró sólo tetracloruro de carbono, manifestó un gran aumento a las 24 horas que disminuyó poco hacia las 120 horas, pudiendo explicar este aumento por el grado de necrosis de los hepatocitos ( 15, 20, 24 ); al compararlo con el grupo al que se le administró tetracloruro de carbono más silimarina se observó que sus valores se mantuvieron dentro del intervalo normal, comprobando que la silimarina si actua como protector hepático; en el grupo donde se administró sólo silimarina no hubo ningun efecto, manteniéndose sus valores dentro del intervalo normal ( 28, 38 ).

Este hallazgo también se ha observado en intoxicación por Amanita phalloides ( 62 ), intoxicación por talio ( 37 ), inducción de cirrosis hepática en ratas ( 40 ) y en humanos utilizandolo en el tratamiento de hepatitis infecciosa de la

infancia ( 43 ).

En lo que concierne a la fosfatasa alcalina sérica se observó de igual manera que se manifestó un aumento en el grupo al cual se le suministró tetracloruro de carbono y aunque sus valores se encontraron dentro del intervalo normal, su promedio en comparación con los otros dos grupos es mayor; explicando esto porque el tetracloruro de carbono produce cierto grado de colestasis secundaria a la necrosis ( 15, 24 ) y la necrosis aguda produce aumentos pequeños de fosfatasa alcalina sérica ( 20 ). Por ello en este caso los valores de los tres grupos se mantuvieron dentro del intervalo normal siendo el grupo de tetracloruro de carbono el más alto, deduciéndose que si hay cierta necrosis hepática: los valores de los grupos tetracloruro de carbono más silimarina y sólo silimarina son menores ( 28 ).

Esto también se observó en las investigaciones realizadas con tóxicos como el tetracloruro de carbono en ratas ( 28, 38 ), talio ( 37 ), en el tratamiento de hepatitis viral ( 3 ) y hepatitis reactiva inespecífica ( 30 ); al evaluar dicha enzima.

Los resultados obtenidos para la bilirrubina total, directa e indirecta nos mostraron un daño hepático que se detectó por una ligera elevación de la bilirrubina total y la relación de la bilirrubina directa e indirecta a las 120 horas ( 15, 24, 34 ), esto en el grupo al que se le administró tetracloruro de carbono, debido a que las bilirrubinas miden principalmente hepatitis

crónica ( 8. 15. 24. 34 ) y en el diseño experimental se produjo un daño agudo.

No se presentaron valores los cuales sobrepasarán los intervalos normales. ni se alteró la relación de bilirrubina directa e indirecta en los grupos a los que se les administró tetracloruro de carbono más silimarina y sólo silimarina. concluyéndose que en estos grupos no se detectó un daño hepático ni alteración de los valores dentro de su intervalo normal.

Las globulinas mostraron en el grupo de tetracloruro de carbono un proceso inflamatorio que se produce por la respuesta al tóxico ( 15. 24. 34 ) y en los otros dos grupos no sobrepasa los intervalos normales deduciéndose que si hay protección de la silimarina y no produce efectos tóxicos.

#### BIOMETRIA HEMATICA:

No se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa en lo que se refiere a la fórmula roja. Hahn V. ( 19 ) encontró que no había cambios en el conteo de eritrocitos cuando se administraba una dosis terapéutica de silimarina durante 22 semanas. En lo que se refiere a los glóbulos blancos. se observó en el grupo ai que se le administró tetracloruro de carbono que a las 24 horas hubo un aumento. que continuó hacia las 120 horas. esto fué indicativo de la existencia de inflamación que aunado a todas las pruebas antes

mencionadas demostró una inflamación hepática.

En el grupo al cual se le administró tetracloruro de carbono más silimarina se observó un aumento a las 24 horas. sin embargo tambien se pudo apreciar una disminución hacia las 120 horas. demostrando así la eficacia del fármaco a probar.

En el grupo al que se le dió sólo silimarina la distribución de los valores es casi lineal. observándose un ligero descenso hacia las 120 horas; sin embargo los valores siguieron dentro del intervalo normal.

Hahn V. ( 19 ) encontro que no hubo cambios en el conteo de linfocitos con una aplicación terapéutica de silimarina hasta por 22 semanas.

Los neutrófilos segmentados aumentan por la respuesta inflamatoria aguda y es por esto que en el grupo donde se administró tetracloruro de carbono los valores se elevaron pero en el que se administró tetracloruro de carbono más silimarina se observó que los valores fueron menores a las 120 horas. lo que demuestra que la silimarina sí actuó como un protector hepático.

En el grupo al que se le administró sólo silimarina se observó una ligera disminución pero no considerable. ya que su distribución fué casi lineal durante el experimento.

En lo que se refiere a los neutrófilos en banda se observó un aumento a las 24 y a las 120 horas en los tres grupos. pero sin que estos valores sobrepasaran el intervalo normal.

En lo que se refiere a los eosinófilos, se observó que en el grupo de tetracloruro de carbono existió un aumento a mayor tiempo, pero sin rebasar los límites normales.

En el grupo de tetracloruro de carbono más silimarina se observó un aumento a las 24 horas y se continuó con este hasta las 120 horas, llegando al límite mayor del intervalo normal, en el grupo al que sólo se le administró silimarina también se manifestó el mismo aumento a las 24 y a las 120 horas, sobrepasando el intervalo normal, esto se pudo explicar como una reacción alérgica al medicamento ( 56 ), sin embargo no se observaron manifestaciones clínicas.

#### HISTOPATOLOGIA

Histopatológicamente se pudo observar en lo que respecta a la congestión, degeneración, necrosis, infiltrados, pigmentación y fibrosis, que el grupo al cual se le administró tetracloruro de carbono, manifestó un porcentaje mayor de lesión que en los otros dos grupos, estos cambios indican que el fármaco sí produce degeneración y necrosis hepática.

En diversas investigaciones se ha reportado que existe necrosis centrolobulillar en un 83 % de los ratones intoxicados con tetracloruro de carbono ( 35 ) y hemorragias marcadas en animales intoxicados con Amanita phalloides: en ambas investigaciones se tuvo un grupo el cual fué intoxicado y tratado

con silimarina: observandose un mínimo de lesiones en estos ( 62 ).

Se observó que en el grupo al que se le administró tetracloruro de carbono más silimarina estos cambios histopatológicos son menores en todos los casos, demostrando la efectividad de la silimarina en la intoxicación por tetracloruro de carbono.

En cuanto al grupo al cual se le administró sólo silimarina todo indicó que no hay cambios aparentes en los hígados de los animales tratados.

Histopatológicamente los animales en algunos casos presentaban infiltraciones de tipo graso en el hígado ( 19 ).

## CONCLUSIONES

Puede establecerse que la Silimarina ( Silybium marianum ) tiene un efecto hepatoprotector, esto se demostró, debido a que en los resultados no se encontraron alteraciones estadísticamente significativas de los valores para las pruebas de funcionamiento hepático, histopatología así como en biometrías hemáticas: esto en el grupo experimental donde se administró el tóxico ( tetracloruro de carbono ) junto con el fármaco hepatoprotector ( silimarina ).

De la misma manera se confirmó lo anterior ya que hubo alteraciones estadísticamente significativas en los valores de funcionamiento hepático e histopatología en el grupo donde se administró sólo tetracloruro de carbono.

También se establece que no existen efectos hepatotóxicos del fármaco hepatoprotector ya que no hubo variaciones estadísticamente significativas en los valores de funcionamiento hepático ni en los estudios histopatológicos: existiendo sólo un aumento de eosinófilos sanguíneos, esto en el grupo al cual se le administró sólo silimarina.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

## BIBLIOGRAFIA

- 1.-Aguilar J.R., Chorne R., Reyes A., y Luevano E.: Efecto terapéutico de la Silimarina en las hepatopatías agudas de etiología viral y alcohólica. Invest. Med. Int. 14: 144-154 (1987).
- 2.-Alarcón de la Lastra C., Martín M. J. y Marhuenda E.: Gastric anti-ulcer activity of Silymarin a lipoxigenase inhibitor in rats. J. Pharm. Pharmacol. 44: 929-931 (1992).
- 3.-Alberola V., Labiós M., Palop R., Valles M., Sánchez M.C. y Valdés M.: Estudio experimental de la lesión hepática (Hepatitis reactiva inespecífica) en procesos supurativos y necróticos renales. Efecto hepatoprotector de la Silimarina. Munchener Medizinische-Wochenschrift. 10:473-492 (1978).
- 4.-Benjamin M. M.: Manual de patología clínica en veterinaria. 3a reimpresión. Limusa. México 1991.
- 5.-Bindoli A., Cavallini L., and Siliprandi N.: Inhibitory action of Silymarin of lipid peroxide formation in rat liver mitochondria and microsomes. Biochem. Pharmacol. 26: 2405-2409. (1977).
- 6.-Camara M. M. y Hernández V. H.: Comparación del tratamiento convencional para la Parvovirus canina, contra el mismo tratamiento más la transfusión directa de sangre. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan. Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. México 1993.

- 7.-Cavalieri S.: Valoración clínica controlada del Legalón. Gazz. Med. Ital. 133 628 (1974).
- 8.-Coles E.H.: Diagnóstico y patología en veterinaria 4a edición. Interamericana. Mexico 1986.
- 9.-Combes B.: Prednisolone for primary biliary cirrhosis-good news, bad news. Hepatology 10: 511-513 (1989).
- 10.-Cotran R.S., Kumar V. y Robbins S.L.: Patología estructural y funcional. 4a edición. Interamericana-McGraw-Hill. España 1990.
- 11.-Chavez G.M.E.: Manual de uso del paquete estadístico NWA con orientación a la carrera de Médico Veterinario Zootecnista, Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 1994.
- 12.-Daniel W.W.: Bioestadística. 3a edición. Limusa. México 1989.
- 13.-Desplaces A., Choppin., Vogel G. and Trost W.: The effects of Silymarin on experimental Phalloidine poisoning. Arzneim-Forsch ( Drug Res. ) 25: 89-96 (1975).
- 14.-Di Fiore S. H.: Diagnóstico histológico. 3a edición. El Ateneo México 1963.
- 15.-Duncan J.R. and Prasse K.W.: Veterinary clinical pathology. 2nd edition. Iowa University Press U.S.A. 1985.
- 16.-Ferenci P., Dragosics B., Dittrich H., Frank H., Benda L., Lochs H., Meryn S., Baze W. and Schneider B.: Randomized controlled trial of Silymarin treatment in patients with

- cirrhosis of the liver. J. of Hepatology 9: 105-113 (1989).
- 17.-Fuentes V.: Farmacología y terapéutica veterinaria. Interamericana, México 1989.
- 18.-García R. P.: Atlas de histopatología básica. Tesis de Licenciatura Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México 1988.
- 19.-Hahn V. G., Lehmann H. D., Kurten M., Uebel H. und Vogel G.: Zur pharmakologie und toxikologie von Silymarin des antihepatotoxischen wirkprinzips aus Silybium marianum ( L. ) Gaertn. Arzneim-Forsch. ( Drug Res. ) 20 698-704 (1973).
- 20.-Hamilton H. K. y Rose M. B.: Diagnóstico clínico, Interamericana, México 1985.
- 21.-Humphrey D. J.: Toxicología veterinaria, 3a edición, Interamericana-McGraw-Hill, España 1990.
- 22.-Jones D. B.: Gastroenterología canina y felina, Interamericana, Argentina 1989.
- 23.-Jubb K.V.F. and Kennedy P.C.: Pathology of domestic animals, 3rd edition Academic Press Inc. U.S.A. 1985.
- 24.-Kaneko J. J.: Clinical biochemistry of domestic animals, 4th edition, Academic Press Inc. U.S.A. 1989.
- 25.-Kurz-Dimitrova D.: Leberschutzbehandlung psychiatrisch-neurologischer patienten bei langezeittherapie mit

- psychopharmako. Mda. Zschr. f. praklin. Geriatrie. 9: 1971.
- 26.-Lecomte J.: Propriétés pharmacologiques générales de la Silybine et de la Silymarine chez le rat. Rev. Med. Liege 34 110-114 (1975).
- 27.-Lesson C. R., Lesson T. S. y Paparo A. A.: Histología. 5a edición. Interamericana. 1989.
- 28.-Letteron P., Labbe G., Degott C., Berson A., Fromenty B., Delaforge M., Larrey D. and Pessayre D.: Mechanism for the protective effects of Silymarin against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice. Biochem. Pharmacol. 39: 2027-2034 (1990).
- 29.-Lorenz D., Lucker P. W., Mennicke W. H. and Wetzelsberger N.: Pharmacokinetic studies with Silymarin in human serum and bile. Arzneim-Forsch ( Drug Res. ) 23: 655-661 (1985).
- 30.-Magliulo E., Gagliardi B. und Fiori G. P.: Zur wirkung von Silymarin bei der behandlung der akuten virushepatitis. Med. Klinik 73 1060-1065 (1978).
- 31.-Marcato P.S.: Anatomía e histología patológica especial de los mamíferos domesticos. 2a edición. Interamericana-McGraw-Hill. España 1990.
- 32.-Martinez C.I., Campos-Ápaez A., Rosales V.E. and Moureile M.: Vitamin E improves membrane lipid alterations induced by CCl4 intoxication. J. of Appl. Toxicol. 4 270-272 ( 1984 ).
- 33.-Martinez R. A.: Evaluación en canal de cuatro grupos

- geneticos porcinos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan. Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México 1992.
- 34.-Medway W., Prier J. E. y Wilkinson J. S.: Patología clínica veterinaria. UTHEA. México 1986.
- 35.-Meib R., Heinrich U., Robenek H. and Themann H.: Effect of Silybin on hepatic cell membranes after damage by polycyclic aromatic hidrocarbons ( PAH ). Agents and action 12: 254-257 (1982).
- 36.-Meyer L. y Jones A. B.: Farmacología y terapéutica veterinaria. UTEHA. México 1982.
- 37.-Mourelle M., Favari L. and Amezcua J. L.: Protection against Thallium hepatotoxicity by Silymarin. J. of Appl. Toxicol. 8: 351-354 (1988).
- 38.-Mourelle M., Muriel P., Favari L. and Franco T.: Prevention of CC14 induced liver cirrhosis by Silymarin. Fundam. Clin. Pharmacol. 3: 183-191 (1989).
- 39.-Mourelle M. and Meza M. A.: CC14 induced lipoperoxidation triggers a lethal defect in the liver plasma membranes. J. of Appl. Toxicol. 10: 23-27 (1990).
- 40.-Muriel P. and Mourelle M.: Prevention by Silymarin of membrane alteration in acute CC14 liver damage. J. of Appl. Toxicol. 10: 275-279 (1990).
- 41.-Muriel P. and Mourelle M.: The role of membrane composition

- in ATPase activities of cirrhotic rat liver: effect of Silymarin. J. of Appl. Toxicol. 10: 281-284 (1990).
- 42.-Muriel P., Garcíapiña T., Perez-Alvarez V. and Mourelle M.: Silymarin protects against Paracetamol-induced lipid peroxidation and liver damage. J. of Appl. Toxicol. 12: 439-442 (1992).
- 43.-Musso A., Giacchiro M., Vietti M., Vaccino P. y Cerutti A.: Consideraciones sobre el uso de la Silimarina y de la SAME en el tratamiento de la hepatitis infecciosa aguda de la infancia. Minerva Pediatr. 32: 1057-1067 (1980).
- 44.-Neumaier W.: Enjuiciamiento crítico de los valores de laboratorio durante una nueva hepatoterapia. Arztl Praxis 21: 3637-3639 (1970).
- 45.-Niemand H. G.: Practicas de clinica canina 4a impresión. CECSA, Mexico 1987.
- 46.-Pascual C., Gonzalez R., Armesto J. and Muriel P.: Effect of Silymarin and Silybin on oxygen radicals. Drug. Dev. Res. 29: 73-77 (1993).
- 47.-Paulova J., Dvorak M., Folouch F., Vanova L. and Janeckova L.: Evaluation of the hepatoprotective and therapeutic effects of Silymarin in an experimental carbon-tetrachloride intoxication of liver in dogs. Vet. Med. 35: 629-635 (1990).
- 48.-Rauen H. M. und Schriewer H.: Die antihepatotoxische wirkung von Silymarin bei experimentellen leberschadigungender ratte

- durch tetrachlorkohlenstoff D-galaktosamin und allylalkohol. Arzneim-Forsch ( Drug Res. ) 21: 1194-1201 (1971).
- 49.-Rui Y. C.: Advances in Pharmacological studies of Silymarin. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 86: 79-85 (1991).
- 50.-Schandalik R., Gatti G. and Perucca E.: Pharmacokinetics of Silybin in bile following administration of silipide and Silymarin in cholecystectomy patients. Arzneim-Forsch ( Drug Res. ) 42: 964-968 (1992).
- 51.-Sonnenbichler J., Mattersberger J. und Rosen H.: Stimulierung der RNA-Synthese in rattenleber und in isolierten hepatocyten durch Silybin, einen antihepatotoxischen wirkstoff aus Silybium marianum L. Gaertn Physiol. Chem. 357: 1171-1180 (1976).
- 52.-Sporri H.: Fisiopatologia veterinaria. Acribia. España 1986.
- 53.-Steel R. G. y Torrie H. J.: Bioestadística McGraw-Hill, México 1985.
- 54.-Stefano M. P.: Anatomía e histología patológica especial de los mamíferos domésticos. 2a edición Interamericana McGraw-Hill, España 1990.
- 55.-Strombeck D. R. and Guilford W. G.: Small animal gastroenterology 2nd edition. Wolfe, U.S.A. 1991.
- 56.-Tizard I.: Inmunología veterinaria. 3a edición. Interamericana, México 1989.
- 57.-Thomson G. R.: General veterinary pathology. 2nd edition. W.

- B. Saunders Company. U.S.A. 1984.
- 58.-Trigo T. F., Mendez M. D., De Buen N., Casaubón H. T., Enriquez O. J., Mateos P. A., Sanchez S. M. y Schunemann A.: Patología general veterinaria. 2a edición. UNAM. México 1987.
- 59.-Tyutyulkova N., Tuneva S., Gorantcheva U., Tanev G., Zhivkov V., Chelibonova-Lorer H. and Bozhkoh S.: Hepatoprotective effect of Silymarin ( Carsil ) on liver of D-Galactosamine treated rats. Biochemical and morphological investigations. Meth. and Find. Exptl. Clin Pharmacol. 3: 71-77 (1981).
- 60.-Valero G., Marquez R. N., Trigo F. J. y Soriano J.: Cuantificación de patología hepática. I Congreso de la Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios. México 1993.
- 61.-Vogel V. G., Trost W., Braatz R., Odenthal K. P., Brusewitz G., Antweiler H. und Seeger R.: Untersuchungen zu Pharmakodynamik, Angriffspunkt und wirkungsmechanism von Silymarin, dem antihepatotoxischen prinzip aus Silybium marianum ( L. ) Gaertn. Arzneim-Forsch ( Drug Res. ) 25: 82-89 (1975).
- 62.-Vogel G., Tuchweber B., Trost W. and Mengs U.: Protección by Silybinin against Amanita phalloides intoxication in Beagles. Toxicol. and Appl. Pharmacol. 73: 355-362 (1994).
- 63.-Weil C. y Frimmer M.: Efecto de la Silimarina sobre el hígado de rata aislado y perfundido intoxicado con Faloidina. Arzneim-Forsch ( Drug Res. ) 35: 860-863 (1970).

64.-Wilhelm H.: The effect of Silymarin treatment on the course of acute and chronic liver diseases. Zeitschrift Fur Therapie 8: 482-495 (1972).