

Acción de la silimarina en la Intoxicación experimental con DL-etionina en pollos de carne.

J. A. Sánchez García, T. Terán Somaza, M. Sierra Vega y D. Santiago Laguna¹.

Cátedra de Farmacología y Toxicología. Facultad de Veterinaria de León Universidad de Oviedo

INTRODUCCION

La silimarina es la denominación con que se conoce el principio activo de los frutos del *Sylibum marianum*, cardo mariano, una compuesta adventicia que crece en zonas de clima mediterráneo. Esta sustancia es una mezcla de tres moléculas diferentes, silibina, silidianina y silicristina, combinaciones de la taxifolina y el alcohol coniferílico que difieren entre sí en la disposición espacial de ambos restos; son isómeros de posición del mismo peso molecular. Desde 1965 se han multiplicado los estudios sobre la acción hepatoprotectora de estos compuestos, como lo demuestran los trabajos de Neumaier, 1970; de Fintelman, 1970, que revisó la terapia con silimarina de las hepatitis degenerativas; Holzgartner, 1970; Hammlerl y cols., 1971; Poser, 1971, que comunicó el resultado de la terapéutica con silimarina en las enfermedades crónicas del hígado; Plomteux y cols., 1974; Vogel, 1974, que revisó la acción de la silimarina como agente antihepatotóxico; Pérez y cols., 1974; López y cols., 1974; Reallini y cols., 1975; Leber y cols., 1976; Saba y cols., 1976, que valoraron clínicamente la terapia con silimarina en las hepatopatías crónicas de origen yatrógeno; Cavallini y cols., 1976, y Gagliardi y cols., 1978, que aplicaron y valoraron la silimarina en el tratamiento de las hepatitis a virus.

Las enfermedades hepáticas crónicas de los animales domésticos, generalmente de origen infeccioso, parasitario o yatrógeno, se han tratado tradicionalmente con otras medidas terapéuticas. Sin embargo, las llamadas enfermedades de la producción, que se manifiestan en los animales de granja, sometidos a dietas especialmente energéticas y a condiciones de vida estrictamente regladas por criterios productivos y económicos, se presentan cada vez con más frecuencia como síndromes en los que las hepatopatías crónicas con degeneraciones grasas tienen una elevadísima tasa de frecuencia.

Así citaremos como una de las más importantes y costosas para los ganaderos, el síndrome de hígado graso y hemorrágico en *broilers* y ponedoras (FLHS), descrito por numerosos autores, entre otros, Barton y cols., 1966; Qinsenberry y cols., 1967; Thayer y cols., 1972; Wolford y cols., 1972; Bragg y cols., 1973, y Harms, 1976.

En la bibliografía consultada por nosotros no hemos hallado ninguna referencia al uso de la silimarina en el tratamiento o prevención de la esteatosis hepática en las aves de alta producción de carne o huevos. Por tal motivo nuestros intentos se dirigen actualmente a la valoración de este hepatoprotector en las gallinas.

En esta comunicación presentamos nuestros primeros datos sobre la acción de la silimarina sobre el hígado de pollos jóvenes experimentalmente intoxicados con dl-etionina.

Entre los diversos agentes que se vienen empleando para provocar lesiones experimentales en el hígado, tetracloruro de carbono, faloidina, alfa-amanitina, praseodimio, etanol, alfa-naftil-isotiocionato, etc., la etionina aparece como uno de los más interesantes (Vogel, 1974).

Nosotros hemos elegido esta sustancia por las siguientes causas: Rapidez de acción: aparecen lesiones ostensibles en doce a veinticuatro horas. Mecanismo de acción interesante: actúa como antagonista de la metionina e inhibe la incorporación de ésta y de la glicina a las lipoproteínas hepáticas (Simpson y cols., 1950). Y finalmente, por el carácter limitante que la metionina tiene en la alimentación de los pollos. Las referencias de que disponemos acerca de la acción de la etionina sobre las aves son extraordinariamente escasas si exceptuamos los trabajos de Yamada, 1977 a, 1977 b.

En nuestro dispositivo experimental hemos planteado la comprobación de la acción de diferentes pautas de administración y dosis de silimarina frente a una administración única de dl-etionina a través de las variaciones de los siguientes parámetros: relación peso hígado/peso total, porcentaje de lípidos hepáticos sobre peso de hígado fresco, lipemia y colesterolemia.

MATERIAL Y METODOS

Para nuestro trabajo hemos empleado pollitos Hubbar de dos semanas de edad, criados por nosotros y donados por una casa comercial dedicada a la producción industrial de aves de carne (1). Los animales procedían de una estirpe en la que previamente habíamos controlado la ganancia de peso, la viabilidad y la respuesta a diversos niveles de dosificación de etionina. Los animales fueron distribuidos en cuatro lotes de ocho animales cada uno a los que se mantuvo desde el nacimiento separados y alojados en batería y recibiendo un pienso de las características siguientes: pienso compuesto con un 18 por 100 de proteína bruta, 3,10 por 100 de grasa, 98 U.A. por cada 100 Kg. y 156 g. de proteína digestible por U.A.

Los animales del primer lote se pesaron el primer día de la experiencia, segunda semana de vida, y el séptimo día recibieron 300 mg./Kg. de peso vivo de dl-etionina en suero fisiológico por vía intraperitoneal. A las veinticuatro horas se extrajo sangre a todos los pollitos por punción cardíaca, repitiéndose la toma a las setenta y dos horas y a la semana de la administración de etionina.

(1) Avícola Leonesa. León.

En el segundo lote los pollos, una vez pesados, recibieron 100 mg./kilogramo peso vivo de silimarina (2) disuelta en propilenglicol, por vía subcutánea, repitiendo la inyección a las veinticuatro y cuarenta y ocho horas. Una semana después de la última administración de silimarina recibieron dl-etionina a la misma dosis y por la misma vía que el lote anterior.

De estos animales obtuvimos igualmente sangre, con la misma pauta que en el lote precedente, a las veinticuatro y setenta y dos horas y a la semana de inyectar etionina.

El tercer lote estuvo compuesto, como los anteriores, por ocho animales, que se pesaron al comenzar la experiencia y recibieron silimarina con la misma pauta de administración y a las dosis del lote anterior; cuarenta y ocho horas después de la última administración de silimarina se les inyectaron 300 mg./Kg. peso vivo de dl-etionina. Al día siguiente se obtuvo sangre de estos animales como en los anteriores lotes.

El cuarto lote sirvió de testigo y durante la primera semana de la experiencia los animales que lo integraban, ocho, como en los lotes anteriores, recibieron 1 ml. de propilenglicol cada vez que los pollos de los restantes lotes eran inyectados con la solución de silimarina en este vehículo. Las extracciones de sangre en estos animales se realizaron simultáneamente con los lotes anteriores.

Al finalizar la experiencia, todos los animales fueron pesados y sacrificados, seccionando la yugular. A continuación se extrajo el hígado, que se pesó en fresco y se congeló inmediatamente.

El método empleado para la determinación del porcentaje de lípidos hepático fue el de Folch, extracción con cloroformo:metanol (2:1). La lipemia y la colesterolemia se determinaron por los métodos de Zöllner y Kirsch y Lieberman-Burchard, respectivamente.

Durante la experiencia se realizaron controles periódicos del peso de los pollos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos y que discutimos a continuación pretenden confirmar la siguiente hipótesis de trabajo: la dl-etionina, tóxico hepático que bloquea la síntesis de proteínas, impide la formación de lipoproteínas que acarrea un descenso de la lipemia y consecuentemente un aumento de la deposición de grasa en el hígado; la administración previa de silimarina evita esta alteración. También pretendíamos comprobar si este compuesto actuaba sobre la síntesis hepática del colesterol presuntamente alterada por la acción de la etionina.

En la tabla I describimos la evolución de la lipemia durante la experiencia en los distintos lotes. En ella expresamos en mg. por 100 ml. de sangre las cantidades de lípidos hallados.

(2) Suministrada por Madaus and Co.

Observamos cómo la lipemia descende ostensiblemente después de la administración de etionina en el lote I, recuperándose los valores normales al cabo de las setenta y dos horas. Cuando se administra silimarina a los pollos antes de la inyección de etionina, el descenso de la lipemia no se manifiesta incluso cuando la administración del protector hepático precede en una semana a la administración de etionina (lote II). La administración de silimarina inmediatamente antes de la inyección de etionina, lote III, igualmente manifiesta su acción ya al término de las primeras veinticuatro horas.

En la tabla 2 hemos representado en porcentaje las cifras indicativas de la acumulación de grasa en el hígado al final de la experiencia y en cada lote.

Comparamos las cantidades medias obtenidas tras el empleo de silimarina con las que hemos encontrado en pollitos tratados con etionina cuando el sacrificio se produjo a las veinticuatro horas y a la semana de la administración. En estas dos últimas circunstancias no se hallaron diferencias significativas, por lo que estimamos que la infiltración grasa del hígado a causa de la etionina perdura al menos durante la primera semana.

La administración previa de silimarina tanto en tres dosis consecutivas de 100 mg./Kg. peso vivo inmediatamente antes de la inyección de 300 mg./Kg. peso vivo de etionina (lote III) como cuando esta administración se realiza una semana antes (lote II), no sólo no evita la acumulación de lípidos en el hígado provocada con la etionina, sino que aumenta ostensiblemente la concentración de éstos con respecto al testigo no tratado con etionina. Estas cifras parecen indicar también que la administración consecutiva de silimarina y etionina produce una intensificación de la deposición de grasa en el hígado de los pollitos, 10,37 por 100, por encima aún de la cifra del 8,32 por 100 que presentaron los animales del lote que solamente habían recibido etionina.

En base a estos datos podemos afirmar que la administración de silimarina por vía subcutánea y a una dosis de 100 mg./Kg. peso vivo mantiene o incluso aumenta la acumulación de lípidos en el hígado provocada por la administración de etionina por vía intraperitoneal y que se mantiene en condiciones normales al menos durante una semana después de la intoxicación experimental con etionina.

Estos datos concuerdan con los que hemos presentado en otra comunicación, cuando pollos en crecimiento reciben diariamente 70 mg./Kg. peso vivo de silimarina incorporados a una dieta normal suplementada hasta con un 20 por 100 de grasa vegetal.

En cuanto a la relación peso hígado/peso total es más alta en los animales previamente tratados con silimarina (lotes II y III) que en aquellos que recibieron solamente el agente hepatotóxico y en los pollitos del lote testigo, $3,79 \pm 0,33$ por 100 y $3,78 \pm 0,38$ por 100, respectivamente, frente a $3,47 \pm 0,42$ por 100 en los pollitos del lote testigo y

Tabla 1

LIPEMIA EN mg. POR 100 ml. DE SANGRE. VALORES MEDIOS Y LIMITES DE CONFIANZA DEL 95 POR 100

	A las 24 horas	A las 72 horas	A la semana
Lote testigo	527,2 $\pm$ 121,2	511,9 $\pm$ 114,5	532,6 $\pm$ 92
Lote I, 100 mg./Kg. peso de etionina	365 $\pm$ 100,6	427,5 $\pm$ 49,1	538 $\pm$ 53,2
Lote II, 100 mg./Kg. peso de etionina siete días después de la última administración de silimarina	581,7 $\pm$ 132,8	500 $\pm$ 52,84	651,4 $\pm$ 176
Lote III, 100 mg./Kg. peso de etionina cuarenta y ocho horas después de la última administración de silimarina	504,7 $\pm$ 216		

Tabla 2

ACUMULACION DE LIPIDOS EN EL HIGADO. PORCENTAJE SOBRE PESO DE HIGADO SIN DESECAR. VALORES MEDIOS Y LIMITES DE CONFIANZA DEL 95 POR 100

		Significación estadística de la comparación con el testigo (1)
Lote testigo	5,89 $\pm$ 0,3	
Lote que recibió 100 mg./Kg. peso vivo de etionina y se sacrificó a las 24 horas	7,72 $\pm$ 1,10	p menor que 0,01
Lote I, 100 mg./Kg. peso vivo de etionina. Sacrificio a la semana	8,32 $\pm$ 1,20	p menor que 0,01
Lote II, 100 mg./Kg. peso vivo de etionina 7 días después de la última administración de etionina. Sacrificio a la semana	8,14 $\pm$ 1,27	p menor que 0,01
Lote III, 100 mg./Kg. peso vivo de etionina 48 horas después de la última administración de silimarina. Sacrificio a las 24 horas	10,37 $\pm$ 1,66	p menor que 0,001 (A) p menor que 0,01 (B)

(1) El lote III se ha comparado con el lote testigo (A) y con el lote que recibió etionina solamente y que se sacrificó veinticuatro horas después.

3,55 $\pm$ 0,27 por 100 en los que sólo recibieron etionina. Aunque las diferencias encontradas no son estadísticamente significativas, la tendencia a la hepatomegalia relativa manifestada en los lotes II y III creemos poder atribuirle a la silimarina que estos animales recibieron. Este hecho viene a coincidir con lo observado en la comunicación que antes citábamos y en la que se comprueba esta tendencia en los pollitos tratados con silimarina.

En la tabla 3 aportamos las cifras correspondientes a colesterolemia. Las cantidades que aparecen en ella expresan mg. de colesterol por 100 ml. de sangre.

El análisis de la varianza de estas medias indica únicamente que a las veinticuatro horas de la administración de etionina el colesterol sérico desciende significativamente de 170 mg. en el lote testigo a 139,2 ($p < 0,05$) en los animales que reciben etionina, cifra ésta todavía entre los márgenes de oscilación de la media anterior, 131,5-210,1 mg., pero notablemente más pequeña.

La colesterolemia pasa a 118,4 en los animales pretratados con silimarina una semana antes de la administración del tóxico, para caer finalmente hasta 96,6 en los pollitos que recibieron silimarina e inmediatamente etionina.

En su conjunto estos hechos indican, a nuestro juicio, que si bien la silimarina restablece la lipemia en los pollos tratados con etionina, tanto si es administrada con una semana de antelación como si se administra inmediatamente después de la etionina, no evita acumulación de lípidos en el hígado, sino que incluso acrecienta la esteatosis hepática promovida por la etionina, efecto éste similar al anotado por nosotros en otra experiencia, en la que se suplementó con niveles de grasa vegetal, netamente tóxicos, la dieta normal de estas aves de rápido crecimiento. Los efectos de la silimarina sobre el metabolismo del colesterol en los pollos parecen igualmente sorprendentes, ya que, en contra de lo esperado por nosotros, hemos hallado una disminución importante en la colesterolemia de los pollitos tratados con silimarina y etionina a la semana o a las veinticuatro horas, que destaca de manera significativa de las normales manejadas por nosotros y de las que hemos obtenido en animales que recibían únicamente etionina.

BIBLIOGRAFIA

- FINTELMAN, V., 1970: «Therapiewoche», 20, 1055-1059.
 POSER, G., 1971: «Arzneim-Forsch.», 21 (8), 1209-1212.
 WOLFORD, J. A., y POLIN, D., 1972: «P. Science», 51, 1707-1713.
 VOGEL, G., 1974: Symp. Pharmacod. Silymar. Madans and Co. Köln, 17-22.
 PLONTEUX, G., y cols., 1974: «Annales de Gastroenterologie et d'Hépatologie», 10 (6), 533-341.
 CAVALLINI, L., y cols., 1976: «Gazzetta Medica Italiana», 136 (7-8), 366-374.
 YAMADA, M., 1977b: «J. Nutr.», 107, 716-723.
 YAMADA, M., 1977a: «J. Nutr.», 107, 708-715.

Tabla 3

COLESTEROLEMIA EN mg. POR 100 ml. DE SANGRE. VALORES MEDIOS Y LÍMITES DE CONFIANZA DEL 95 POR 100

	A las 24 horas	A las 72 horas	A la semana
Lote testigo	170,8 $\pm$ 39,3	178 $\pm$ 42	169,3 $\pm$ 46,1
Lote I, 100 mg./Kg. peso de etionina	139,2 $\pm$ 37,3	158,3 $\pm$ 51,6	121,8 $\pm$ 39,68
Lote II, 100 mg./Kg. peso de etionina siete días después de la última administración de silimarina	118,4 $\pm$ 45,37	148,8 $\pm$ 50,3	147,5 $\pm$ 47,48
Lote III, 100 mg./Kg. peso de etionina cuarenta y ocho horas después de la última administración de silimarina	96,6 $\pm$ 56		