

Universidad de Oriente
Instituto de Farmacia y Alimentos

ATENUACIÓN DEL EFECTO HEPATOTÓXICO DEL TETRACLORURO DE CARBONO EN RATAS TRATADAS CON *POLYPODIUM POLYPODIODES*

Isis B. Bermúdez Camps,¹ María A. Torres Alemán,² Olga Sonia León
Fernández³ y Pedro Tamaki Tamaki⁴

RESUMEN

Se comprobó experimentalmente en ratas la utilidad del *Polypodium polypodiodes* en la atenuación del efecto hepatotóxico provocado por el tetracloruro de carbono, que origina un incremento del nivel de los peróxidos lipídicos y las transaminasas sanguíneas. Se logró una disminución de la transaminasa glutamicopirúvica por debajo de los niveles normales con la administración del extracto de la planta a una dosis de 300 mg/kg de peso corporal. Los peróxidos lipídicos y la transaminasa glutamicooxalacética reducen su actividad, pero no notablemente, lo cual evidencia que el daño hepático persiste a pesar de la recuperación parcial. Los resultados fueron confirmados por un estudio anatomopatológico. Se determinó la toxicidad aguda por vía oral del extracto de la planta y se observó que la DL₅₀ se encuentra por encima de 1 g/kg, por lo que puede considerarse esta preparación como relativamente inocua en los animales de experimentación.

Descriptor DeCS: TETRACLORURO DE CARBONO/efectos adversos; HEPATOPATIAS/inducido químicamente; ASPARTATO TRANSAMINASA/ análisis; ALANINA TRANSAMINASA/ análisis; PLANTAS MEDICINALES; PEROXIDACION DE LIPIDO.

El *Polypodium polypodiodes* es una especie vegetal con propiedades hepatoprotectoras descritas por numerosos

autores,¹⁻³ que crece en Cuba en zonas húmedas y pantanosas; es por ello que con este trabajo investigativo nos propusimos

¹ Profesor Auxiliar de Farmacología. Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas. Universidad de Oriente.

² Doctora en Ciencias Farmacéuticas. Profesora Asistente de Toxicología. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana.

³ Doctora en Ciencias Biológicas. Profesora Auxiliar de Farmacología. Centro de Investigaciones y Ensayos Biológicos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana.

⁴ Instructor de Laboratorio. Universidad de La Habana.

evaluar su posible efecto hepatoprotector frente a la acción hepatotóxica del tetracloruro de carbono en ratas, mediante determinaciones de las transaminasas glutamicooxalacética (GOT) y glutamicopirúvica (GPT), los niveles de peroxidación lipídica y el estudio anatomopatológico del hígado, tanto macroscópico como microscópico.

MÉTODOS

Se utilizaron 43 ratas machos Wistar de 6 meses de edad, con un peso corporal de 200 a 250 g. A los efectos del estudio los animales se distribuyeron de modo aleatorio en 4 grupos según se indica en la tabla 1, y se mantuvieron con libre acceso al agua y al alimento *ad libitum*; además se controló la humedad, la temperatura y el fotoperíodo del local (temperatura 22 + 3 °C, humedad relativa 50-60 %, ciclo de luz-oscuridad de 12 h).

El *Polypodium polypodioides* fue recolectado en Pinar del Río el 15 de enero de 1990 a las 6:05 a.m. en perfecto estado vegetativo (No. herbario 153 P).

Las sustancias administradas fueron preparadas de la forma siguiente:

El tetracloruro de carbono se disolvió en aceite de oliva en una relación 1:1 y se administró por vía intraperitoneal a una dosis

1 mL/kg de peso corporal de acuerdo con lo planteado en la literatura.^{4,5}

El extracto de la planta ensayada se preparó en una concentración de 40 mg/mL y se administró por vía oral 24 h después de inoculada la última inyección de tetracloruro de carbono a la dosis de 300 mg/kg.

La determinación del nivel de las transaminasas se realizó con los patrones comerciales de la firma Boehring Mannheim, que emplea un método colorimétrico.⁶

La peroxidación lipídica fue precisada mediante la valoración espectrofotométrica del malonildialdehído en plasma.⁷

El estudio anatomopatológico se realizó mediante la técnica convencional de tinción con hematoxilina eosina.⁸

La toxicidad aguda oral determinada al extracto de la planta fue realizada en ratones BALBc con el empleo de 10 niveles de dosis (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1 000 mg/kg); para ello se tomaron 10 animales por dosis y se mantuvieron en observación durante una semana, con libre acceso al agua y a la comida según lo normado por la Organización para la Colaboración y el Desarrollo Económico en 1988.

Para el procesamiento estadístico de los resultados se calcularon la media y la desviación estándar para cada grupo experimental y se aplicó la prueba de hipótesis para medias por t students según MICROSTAT.

TABLA 1. Distribución de los grupos para el estudio

Grupos	No. de animales	Sustancias administradas	Tiempo de tratamiento	Tiempo de sacrificio
1	10	Suero fisiológico	6 días	7mo día
2	10	Tetracloruro de carbono	3 días	4to día
3	10	Tetracloruro de carbono	3 días	7mo día
4	10	Tetracloruro de carbono y extracto planta 300 mg/kg	3 días	7mo día

RESULTADOS

No se observaron efectos adversos ni muerte en las dosis ensayadas en ninguno de los grupos de animales que fueron sometidos a ensayo.

En la tabla 2 se refleja el comportamiento de la GPT y la GOT en los distintos grupos evaluados. Véase el aumento considerable de éstas en los animales tratados con tetracloruro de carbono en relación con los controles y los que recibieron el extracto de la planta a la dosis aplicada. Fue llamativo el resultado alcanzado para la GPT, que retornó a su normalidad en ambos grupos, con un nivel de significación de $p < 0,05$, en tanto que el obtenido en el grupo al cual se le administró el extracto de la planta a una dosis de 300 mg/kg puso de relieve que éste favorece la recuperación parcial del hígado.

TABLA 2. Comportamiento de transaminasas

Grupos experimentales	Transaminasas	
	GOT	GPT
1	107	35
2	284,1	297,5
3	390,4	31
4	230,1	24*

* Significativo $p < 0,05$.

La peroxidación lipídica determinada en nuestra experiencia permitió evaluar el grado de lesión tóxica de la célula producido por el tetracloruro de carbono;⁹⁻¹¹ en estos grupos se alcanzaron niveles de 21,8 y 16,3 nmol/L y se destacó el menor nivel en el grupo tratado con el extracto de la planta a 300 mg/kg (1,1 nmol/L), valor que aún no rebasa el obtenido en el grupo control (0,8 nmol/L).

El estudio anatomopatológico confirmó los resultados obtenidos con los parámetros sistémicos, al apreciarse

diferencias notables entre los grupos desde el punto de vista macroscópico y microscópico, que fueron muy significativas para el grupo no. 4, el cual mostró signos de recuperación hepática, con mantenimiento exclusivo de la hepatomegalia (5,2 cm) en relación con el grupo control (4,6 cm).

DISCUSIÓN

El *Polypodium polipodioides* resulta relativamente inocuo ya que no se presentan signos de toxicidad a dosis inferiores a 1 000 mg/kg.

El aumento considerable de los niveles de GPT y GOT en los animales tratados con el tetracloruro de carbono (tabla 2) coincide con lo informado en literatura, donde se señala el efecto necrozante hepático de esta sustancia.¹²

Por otro lado, los niveles alcanzados para el grupo control son muy cercanos a los comunicados por otros autores para ratas machos menores de 6 meses de edad (GOT = 97; GPT = 38).¹³

El retorno de la GPT a la normalidad y la alteración mantenida de la GOT coinciden con lo planteado en la literatura,¹⁴ en la que se afirma que el daño ocasionado por el tetracloruro de carbono en las mitocondrias de las células provoca un aumento de la GOT por encima de la GPT, pero esta última se normaliza en semanas o meses.

Los niveles de peróxidos lipídicos detectados en los grupos tratados con tetracloruro de carbono evidencian el grado de lesión tóxica que éste produce sobre la célula.^{9,11} Puede señalarse que el valor alcanzado por el grupo tratado con el extracto de la planta a la dosis de 300 mg/kg que aún no rebasa los valores del grupo control, nos demuestra que la recuperación total del daño hepático no se produce.

En sentido general, los resultados obtenidos con el extracto de la planta a la dosis ensayada indican la atenuación que esta produce, del efecto hepatotóxico del tetracloruro de carbono y aunque no puede caracterizarse el *Polypodium polypodioides*

como hepatoprotector en las condiciones experimentales de nuestro estudio, nuestros hallazgos apuntan hacia la posibilidad de este efecto con dosis superiores a la empleada durante un mayor tiempo de tratamiento.

SUMMARY

The benefits of *Polypodium polypodioides* in reducing hepatotoxic effects caused by carbon tetrachloride which gives rise to increased level of lipid peroxides and blood transaminase were tested in rats under lab conditions. Glutamicpyruvic transaminase level was lower than the normal levels due to the administration of a 300 mg/kg dose of the plant extract. The activities of both lipid peroxides and glutamicoxalacetic transaminase were reduced but not in a remarkable way showing that the hepatic damage is still present despite the partial recovery. The results were confirmed using an anatomological study. Likewise, acute toxicity resulted from oral administration of plant extract was determined. It was observed that DL_{50} level was over 1g/kg, so this preparation may be considered relatively harmless in lab animals.

Subject headings: CARBON TETRACHLORIDE/ adverse effects; LIVER DISEASES/ chemically induced. ASPARTATE TRANSAMINASE/ analysis; ALANINE TRANSAMINASE/ ANALYSIS; PLANT, MEDICINAL; LIPID PER OXIDATION.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Escurdia LA de. Estudio sobre la Doradilla. Texas: Universidad de Texas; 1989;118-9.
2. Roy JT. Plantas medicinales, aromáticas y venenosas de Cuba. 2 ed. La Habana: Instituto Cubano del Libro; 1974:104-6.
3. Cuevas BC. Plantas medicinales de Yucatán. Anales Inst Méd Nac, 1910;79(2):311-4.
4. Clarke SI, Lui EM. Interaction of metallothionein and tetrachloride on the protective effect of zinc on hepatotoxicity. Can J Physiol Pharmacop 1985;26(64):1104-10.
5. Moslen MA. Increased incidence of hepatic foci and nodules in rats given on two doses of 1,2-dibromoethane. Toxicol Pathol 1985;12(4):2113.
6. Reitman SI, Frandel L, Amer AK. Test combination GOT/GPT. J Clin Pathol 1957;1:28-56.
7. Yagi K. Assay for blood plasma or serum. In: Packer L ed. Methods in Enzymology. New York: Academic Press; 1984:328-31.
8. Stanley SR, Leslie DS. Medical laboratory technology and clinical pathology. 2 ed. La Habana: Editorial Ciencia y Técnica, 1972:48-52.
9. Smith AS, Their OA. Fisiopatología. Principios básicos de la enfermedad. La Habana: Editorial Ciencia y Técnica; 1983;t2:78-104.
10. Bowman WC, Rand MJ. Farmacología. Bases bioquímicas y fisiológicas. Aplicaciones clínicas. 2 ed. La Habana: Editorial Ciencia y Técnica, 1984:154-8.
11. Repetto MA. Toxicología experimental. 2 ed. Barcelona: Editorial Científico-Técnica;1988:34-58.

12. Rojkind MA, Keishenovich DD. Effect of colchicine on collagen, albumin and transketin synthesis by cirrhtie rat liver slices. *Biochim Biophys Acta* 1975;378:415.
13. Wolford RT. Medición de valores normales en animales de experimentación. *J Toxicol Environ Health* 1986;18:161-88.
14. Pérez FI. Anatomofisiología hepática. *Clin Lab* 1989;3:1-8.

Recibido: 30 de noviembre de 1998. Aprobado: 29 de diciembre de 1998.

Prof. *Isis B. Bermúdez Camps*. Edificio 12 plantas 6to piso apartamento K, Reparto Antonio Maceo, Santiago de Cuba, Cuba.