

Trabajo científico

Efectos hepatoprotector y antioxidante de *Taraxacum officinale* en el daño hepático agudo inducido por el tetracloruro de carbono en la rata

Hepatoprotective and antioxidant effects of *Taraxacum officinale* against carbon tetrachloride induced acute hepatic damage in the rat

Liliana Favari,¹ Carlos Arce-Díaz,² Julieta Ortíz-Martínez,² Saudy Pablo-Pérez,² Claudia Soto,³ María Estela Meléndez-Camargo²

¹Departamento de Farmacología, CINVESTAV-IPN, México

²Departamento de Farmacia, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-Zacatenco, Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Instituto Politécnico Nacional, México

³Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México

Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar los efectos hepatoprotector y antioxidante de *Taraxacum officinale* (100, 200 y 400 mg/kg) en la intoxicación hepática aguda con tetracloruro de carbono (CCl_4) en ratas que fueron protegidas oralmente con *T. officinale* y colchicina (testigo positivo), durante tres días comenzando tres horas después de la administración del CCl_4 . El extracto acuoso de *T. officinale* redujo las elevadas actividades de la alanina aminotransferasa, la fosfatasa alcalina y la gamma glutamiltranspeptidasa, la bilirrubina sérica y la peroxidación lipídica y elevó la catalasa y la glutatión peroxidasa. El extracto presentó un alto contenido de compuestos fenólicos y una moderada actividad de atrapamiento del DPPH. *Taraxacum officinale* mostró actividad hepatoprotectora y antioxidante evidenciando el uso tradicional de esta planta.

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the hepatoprotective and antioxidant effects of *Taraxacum officinale* (100, 200 and 400 mg/kg) in the acute liver intoxication with carbon tetrachloride (CCl_4) in rats that were protected with *T. officinale* and colchicine (positive control) orally for three days started three hours after the CCl_4 administration. The aqueous extract of *T. officinale* decreased the elevated hepatic activities of alanine aminotransferase, alkaline phosphatase and gamma glutamyltranspeptidase, serum bilirubin and lipid peroxidation and elevated catalase and glutathione peroxidase. The extract presented high total phenolic compound content and moderate DPPH· scavenging activity. *Taraxacum officinale* possessed hepatoprotective and antioxidant effects that evidenced the traditional use of this plant.

Palabras clave: *T. officinale*, dandelion, biomarcadores hepáticos, compuestos fenólicos totales, hepatotoxicidad inducida por CCl_4 .

Key words: *T. officinale*, dandelion, liver biomarkers, total phenolic compounds, CCl_4 -induced hepatotoxicity.

Correspondencia:

Dra. María Estela Meléndez Camargo
Departamento de Farmacia
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Campus Zacatenco
Instituto Politécnico Nacional
Av. Wilfrido Massieu s/n, Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Col. Lindavista, CP 07738, México, DF, México.
(52)(55) 57296000 exts. 52380 y 52408. Fax (52)(55) 57473394
e-mail: mcamargo@ipn.mx, emelendezc@hotmail.com

Fecha de recepción: 31 de julio de 2013

Fecha de recepción de modificaciones:

27 de febrero de 2014

Fecha de aceptación: 10 de marzo de 2014

Introducción

El hígado es un órgano vital que es vulnerable a varias enfermedades como la hepatitis A, B, C y E, el alcoholismo, el hígado graso, la cirrosis, el cáncer y la lesión por varios compuestos químicos.^{1,2} La enfermedad hepática es un serio problema de salud a nivel mundial.³

El daño hepático agudo producido por la administración de varios compuestos químicos en humanos puede ser reproducido por el modelo experimental de daño hepático del tetracloruro de carbono ampliamente utilizado.⁴

El tetracloruro de carbono (CCl_4) es usado frecuentemente como un inductor químico de daño hepático experimental debido a que cuando se metaboliza produce los radicales libres, el triclorometil ($\cdot CCl_3$) que a su vez reacciona con el O_2 para formar el radical triclorometil peroxy (CCl₃COO[·])⁴ que puede interaccionar con los fosfolípidos de la membrana. La destrucción oxidativa de los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de la membrana, la llamada peroxidación lipídica es considerada un importante mecanismo de toxicidad de numerosos compuestos químicos. El efecto directo de la peroxidación lipídica es la destrucción de la membrana y el efecto secundario incluye la pérdida de las enzimas asociadas a la membrana, de los antioxidantes⁵ y la necrosis.

Los radicales libres se han implicado en numerosos procesos patológicos como la enfermedad hepática, la cardiovascular y el cáncer.⁶ El estrés oxidativo es uno de los mecanismos involucrados en la hepatotoxicidad aguda inducida por el CCl_4 .⁶⁻⁷ A pesar de los estudios acerca de la patogénesis molecular del daño hepático, las terapias efectivas para estas enfermedades son todavía limitadas.⁸ La terapia antioxidante inhibe los cambios oxidativos deletéreos y es considerada una herramienta muy importante para los tratamientos de las enfermedades hepáticas.⁹

Las plantas medicinales, las de uso tradicional como *Taraxacum officinale*, son consideradas una fuente importante de nuevos compuestos efectivos como los hepatoprotectores.¹⁰ *Taraxacum officinale* (Asteraceae) es una planta ampliamente utilizada en la Medicina Tradicional Mexicana para el tratamiento de la hepatitis, la cirrosis, la ictericia, los cálculos vesiculares y renales, la diarrea, la gota, la inflamación abdominal y el reumatismo. En el estudio etnobotánico realizado en esta investigación con la especie, se encontró que utilizan principalmente la parte aérea en ensalada, licuada o en decocción para el tratamiento de padecimientos hepáticos,

principalmente hepatitis, la ictericia, los cálculos vesiculares y renales. Esta planta también posee actividades antitumorales y antidiabéticas y previene la bronquitis y la influenza.¹⁰⁻¹²

Otro estudio reveló que el extracto de las hojas del *T. officinale* suprimió la producción del factor de necrosis tumoral (TNF- α) y de la interleucina-6 durante la pancreatitis aguda inducida por el octapéptido de colecistocinina en la rata.¹³ Schütz y colaboradores describen que el extracto de las hojas de dandelion mostró una alta actividad de atrapamiento del peróxido de hidrógeno comparado con el extracto de la raíz, debido a su alto contenido de polifenoles.¹⁰

La capacidad antioxidante del extracto crudo de las flores de *T. officinale*, conocida comúnmente como dandelion ha sido observada también en modelos *in vitro*.¹² Se han encontrado en la planta compuestos químicos como el ácido p-hidroxilfenoxiacético, la taraxantina, la aneurina, el taracóido, el ácido cafeico, el ladiocerol, el androsterol, la levulosa, el taraxol, la colina, la inulina, la luteína, el homotaraxerol, el taraxerol, el taraxasterol, el ácido taraxímico, el β -caroteno, los lactacerol α y β , la sacarosa y la arabinosa.^{10-12,14}

Los compuestos fenólicos poseen un importante efecto antioxidante debido principalmente a sus propiedades redox y a sus grupos químicos tal como los hidroxilos que pueden atrapar radicales libres, quitar iones metálicos, apagar singuletes y tripletes de oxígeno o descomponer peróxidos¹⁵ y estos metabolitos están presentes en esta planta.

El objetivo de este estudio fue evaluar las actividades hepatoprotectora y antioxidante de *T. officinale* utilizando el tetracloruro de carbono como inductor del daño hepático agudo, en ratas para validar su uso en la Medicina Tradicional Mexicana, específicamente de la parte aérea debido a que el estudio etnobotánico mostró como la parte de la planta más utilizada por la población encuestada.

Materiales y métodos

Material biológico

Taraxacum officinale

La planta se recolectó en los jardines de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB), México, D.F. donde era cultivada por la bióloga Delfina Ramos, que la identificó por comparación con especímenes depositados en el herbario del Departamento de Botánica, ENCB (voucher # 222). La planta se lavó, se secó y se pulverizó.

Preparación del extracto acuoso

Quinientos gramos de la parte aérea de la planta se añadió en 3 L de agua destilada en ebullición y se dejó hervir durante 5 minutos. Despues de la extracción, la mezcla se filtró y se concentró a presión reducida hasta un volumen final de 150 mL y se liofilizó. El rendimiento fue de 62.5g (12.5%). El liofilizado se utilizó en todos los experimentos.

Análisis fitoquímico

El extracto acuoso de *T. officinale* se sometió a un análisis fitoquímico preliminar para identificar la presencia de los fitoconstituyentes.¹⁶

Tratamiento de los animales e inducción de la hepatotoxicidad

Se utilizaron ratas *Wistar* macho adultas de 200 a 250 g de peso corporal (pc) procedentes del CINVESTAV-IPN. Se mantuvieron en el bioratorio a la temperatura de 23-24°C y una humedad relativa de 50 a 55%. Se alimentaron con fórmula Diet 5008 de la marca Lab Diet y agua ad libitum con un ciclo de luz-oscuridad de 12 x 12 h.

Los animales se dejaron siete días en el bioratorio para su adaptación a las condiciones del mismo. Todos los procedimientos y el cuidado de los animales estuvieron de acuerdo con la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio del Consejo Mexicano para el Cuidado de los Animales (NOM-062-ZOO-1999).¹⁷

Los animales se dividieron en 7 grupos de 6 a 8 ratas cada uno. El grupo 1 (testigo) recibió 0.5 mL/100 g de pc de aceite de maíz *per os*. Los animales del grupo 2 recibieron 0.5 mL/100 g de pc de agua destilada. Los grupos 3, 4, 5, 6 y 7 recibieron el tratamiento con CCl₄: una única dosis oral de 0.5 mL/100 g de pc de CCl₄ en aceite de maíz (1:1 v/v), respectivamente. El tratamiento con el extracto acuoso de *T. officinale* o colchicina (testigo positivo) se comenzó 3 horas después de la dosis de CCl₄ y se continuó durante 3 días. Así, los animales de los mismos grupos se volvieron a administrar: los grupos 1 (testigo) y 3 (CCl₄) recibieron 0.5 mL/100 g de pc, de aceite de maíz, los grupos 2 y 4 (CCl₄) recibieron una dosis oral de 100 mg/ kg de pc del extracto acuoso de *T. officinale*, respectivamente.

Los grupos 5 y 6 (CCl₄) recibieron una dosis oral de 200 y 400 mg/kg de pc del extracto acuoso de *T. officinale*, respectivamente y el grupo 7 recibió una dosis oral de 10 µg/rata/día de colchicina.

Todos los tratamientos se administraron *per os*. En los animales que se trataron únicamente con 200 y 400 mg/kg de pc del

extracto acuoso (testigos), respectivamente, los niveles de los parámetros bioquímicos no cambiaron con respecto a los niveles obtenidos en el grupo de 100 mg/kg de pc. Por dicha razón, dichos valores no se muestran en las figuras. Veinticuatro horas después de la última administración, las ratas se anestesiaron y se tomaron muestras de sangre por punción cardíaca y se removieron rápidamente los hígados. La sangre colectada se centrifugó a 800g por 10 minutos en una centrifuga TC Sorvall 6 para obtener el suero.

Estimación de las actividades enzimáticas

Enzimas marcadoras de daño hepático y enzimas antioxidantes

En los homogeneizados de hígado al 10% se midieron las actividades de las diferentes enzimas y el nivel de peroxidación lipídica.

La alanino aminotransferasa (ALAT),¹⁸ se determinó mediante el sustrato α-L-alanina y α-oxoglutarato, agregando el homogeneizado al 10% y la 2,4-dinitrofenilhidracina en medio alcalino, para formar la fenilhidrazona correspondiente que absorbe a 515 nm. La determinación de la actividad de la gamma glutamiltranspeptidasa (γ-GT) se basó en la reacción de la γ-glutamil-4-nitroanilina con glicilglicina para formar γ-glutamilglicilglicina y 4-nitroanilina, se mide la absorción de esta última a 410 nm.¹⁹ La actividad de la fosfatasa alcalina (FA), se llevó a cabo utilizando al p-nitrofenilfosfato como sustrato, se midió la absorción del producto final el p-nitrofenol a 410 nm.²⁰ Para determinar la actividad de la catalasa (CAT)²¹ se hizo reaccionar el peróxido de hidrógeno con un exceso del estándar del permanganato de potasio, el residual de éste se leyó a 480 nm. El método de Lawrence y Burk (1976)²² se utilizó para el ensayo de la actividad de la glutatión peroxidasa (GPx) con el hidroperóxido de cumeno como sustrato.

La oxidación del NADPH se midió a 340 nm durante 4 minutos y la actividad enzimática se calculó como nmol NADPH oxidado/mg prot/min usando el coeficiente de extinción molar de 6.22 X 10⁶/M X cm. El nivel de peroxidación lipídica (LPO) se estimó determinando la formación del malondialdehido (MDA) mediante el método del ácido tiobarbitúrico.²³

Determinación del contenido de fenoles y flavonoides totales

Fenoles totales

El contenido de los fenoles totales en el extracto acuoso de *T. officinale* se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteau descrito por Xu.²⁴

La absorbancia se leyó a 662 nm utilizando un espectrofotómetro UV/Vis (Cary 50 probe, Varian, Australia).

Se realizó una curva estándar de quercetina y los resultados se expresaron como mg de equivalentes de quercetina por gramo de extracto acuoso.

Flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales en el extracto acuoso se midió por el método espectrofotométrico de Kim.²⁵ La absorbancia de la muestra se determinó a 440 nm por medio del espectrofotómetro UV/Vis (Cary 50 probe, Varian, Australia). Se preparó una curva estándar de quercetina y los resultados se expresaron como mg de equivalentes de quercetina por gramo de extracto acuoso.

Actividad antioxidante del extracto acuoso de *Taraxacum officinale*

El ensayo del atrapamiento del radical libre DPPH.²¹ se evaluó en el espectrofotómetro UV/Vis (Cary 50 probe, Varian, Australia). El radical DPPH[·] se preparó en metanol a una concentración final de 63.4 mM. La absorbancia de la muestra se midió a 514 nm. La actividad atrapadora se calculó por la ecuación:

$$\% \text{ actividad atrapadora} = \left[1 - \frac{A_1}{A_0} \right] \times 100$$

siendo A_1 la absorbancia de la muestra y A_0 la absorbancia del testigo (metanol en lugar del extracto acuoso). Se usó quercetina como testigo positivo.

Concentración de bilirrubina

Las concentraciones séricas de la bilirrubina total y directa se determinaron mediante el kit Randox laboratories LTD. La bilirrubina total se determina en presencia de cafeína, mediante la reacción con ácido sulfanílico diazotado. La bilirrubina directa o conjugada se determina en ausencia de cafeína.

Contenido de proteínas en el homogeneizado de hígado

Se estimó el contenido total de proteínas hepáticas por el método de Bradford²⁶ utilizando albúmina bovina sérica como estándar.

Ánalisis estadístico

Los datos se expresaron como la media \pm la desviación estándar de la media (DS) de 6-8 animales por grupo. El análisis se realizó mediante el análisis de variancia de una vía seguido por la prueba de las comparaciones múltiples de Tukey.²⁷ Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $p < 0.05$.

Resultados y discusión

Análisis fitoquímico

El extracto acuoso de *T. officinale* reveló la presencia de flavonoides, taninos, azúcares reductores, quinonas y alcaloides.

Efecto del extracto acuoso de *T. officinale* y de la colchicina en los marcadores de daño hepático y enzimas antioxidantes

La administración del CCl₄ produjo cambios en las actividades de las enzimas hepáticas ALAT, FA y γ -GT. El tratamiento con diferentes dosis de *T. officinale* revirtió significativamente los cambios en una forma dependiente de la dosis. El CCl₄ incrementó significativamente ($p < 0.05$) la actividad de ALAT. *Taraxacum officinale*, a la dosis de 100 mg/kg no protegió, por lo que se observó este incremento (tabla 1) pero a las dosis de 200 y 400 mg/kg abolió completamente dichos incrementos. La administración de *T. officinale* solo no modificó la actividad basal de la ALAT.

Tabla 1. Efecto del extracto acuoso de *T. officinale* en la actividad hepática de la alanino aminotransferasa y las concentraciones de bilirrubina

Grupo	Actividad hepática de ALAT ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína)	Concentración sérica de la bilirrubina total (mg/dL)	Concentración sérica de la bilirrubina directa (mg/dL)
Testigo (aceite de maíz)	0.12 \pm 0.03 (8)	0.19 \pm 0.03 (8)	0.08 \pm 0.03 (8)
<i>T. officinale</i>	0.07 \pm 0.02 (8)	0.17 \pm 0.02 (8)	0.06 \pm 0.02 (8)
Grupo tratado con CCl ₄	0.38 \pm 0.11 ** (8)	0.39 \pm 0.02 ** (8)	0.18 \pm 0.04 ** (8)
CCl ₄ + <i>T. officinale</i> (100 mg/kg)	0.25 \pm 0.06 *a (6)	0.29 \pm 0.04 *a (8)	0.08 \pm 0.02 (8)
CCl ₄ + <i>T. officinale</i> (200 mg/kg)	0.16 \pm 0.02 (6)	0.25 \pm 0.04 *a (6)	0.05 \pm 0.02 (6)
CCl ₄ + <i>T. officinale</i> (400 mg/kg)	0.09 \pm 0.03 (6)	0.23 \pm 0.04 (6)	0.05 \pm 0.02 (6)
CCl ₄ + colchicina	0.23 \pm 0.03 * (8)	0.19 \pm 0.02 (8)	0.07 \pm 0.01 (8)

Se muestra la media \pm el error estándar. Entre paréntesis se indica el número de animales. * $p < 0.05$ y ** $p < 0.001$ con respecto al grupo testigo. ^a $p < 0.05$ con respecto al grupo tratado con CCl₄.

La actividad hepática de la FA en el grupo intoxicado con CCl_4 aumentó un 300% comparada con el valor testigo (fig. 1). *T. officinale* protegió totalmente de este aumento, a las dosis de 200 y 400 mg/kg, respectivamente. La administración del extracto de la planta a los animales testigos no modificó el nivel basal de FA. Cuando los animales se trataron con CCl_4 más colchicina (grupo 7) la actividad de la FA permaneció por arriba del testigo siendo significativamente diferente ($p<0.05$) del grupo testigo y del grupo de CCl_4 .

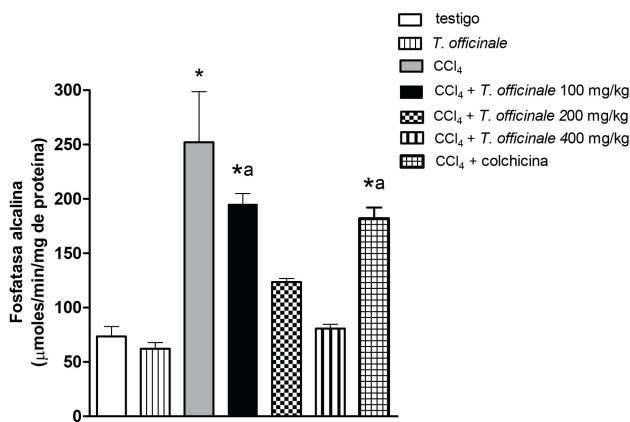


Figura 1. Efecto de *T. officinale* en la actividad hepática de la fosfatasa alcalina tres días después de la intoxicación aguda con CCl_4 . Cada valor representa la media \pm el error estándar de 6 a 8 ratas en ensayos por duplicado. * indica diferencia significativa con respecto al grupo testigo ($P<0.05$). ^a indica diferencia significativa con respecto al grupo tratado con CCl_4 ($P<0.05$).

El valor basal de la actividad de la γ -GT fue de $24.8 \pm 6.1 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ pero el CCl_4 aumentó este valor a $89.9 \pm 19.5 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$, el aumento fue del 362%. Tres días después del tratamiento con *T. officinale*, el valor de la actividad de la γ -GT fue similar al valor del testigo a las dosis de 200 y 400 mg/kg o colchicina. La dosis de 100 mg/kg de *T. officinale* no redujo la γ -GT elevada por el CCl_4 (fig. 2).

Al Said y colaboradores (2007)²⁸ encontraron en el modelo de CCl_4 que el extracto etanólico de *Grewia tenax* (Forssk) a la dosis de 250 y 500 mg/kg previno significativamente la elevación de la aspartato aminotransferasa, la FA, la ALAT y la γ -GT y el nivel de la bilirrubina.

You y cols (2010)²⁹ encontraron que la raíz de *T. officinale*, en un modelo de daño hepático inducido por etanol, redujo las actividades séricas de la aspartato aminotransferasa, la ALAT, la FA, y la lactato deshidrogenasa comparadas con las actividades del grupo de ratones tratados sólo con el etanol. En el estudio realizado por Park y colaboradores en el 2010,³⁰ además de los incrementos en las actividades de las enzimas, observaron

histológicamente procesos inflamatorios con infiltración de células, así como cambios en la grasa centrilobular, en la apoptosis y en la necrosis. El pretratamiento con los polisacáridos de *T. officinale* (TOP1 y TOP2), disminuyeron el proceso inflamatorio, los cambios en la grasa, la apoptosis y la necrosis, además de disminuir la actividad de la ALAT entre otras variables, sugiriendo que estos polisacáridos pudieran tener propiedades hepatoprotectoras por modular la respuesta inflamatoria y disminuir el estrés oxidativo inducido por el CCl_4 .

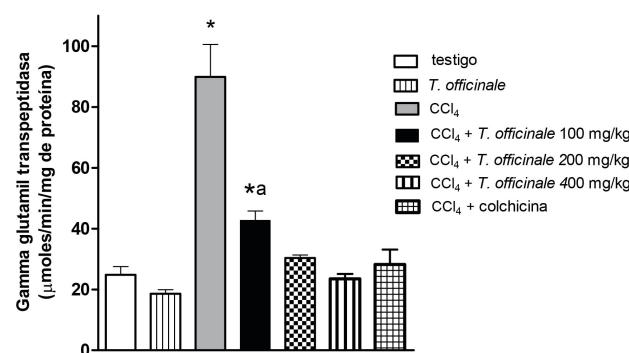


Figura 2. Efecto de *T. officinale* en la actividad de la gamma glutamyltranspeptidasa tres días después de la intoxicación aguda con CCl_4 . Cada valor representa la media \pm el error estándar de 6 a 8 ratas en ensayos por duplicado. * $P<0.05$ con respecto al grupo testigo. ^a $P<0.05$ con respecto al grupo tratado con CCl_4

La fig. 3 muestra que el CCl_4 produjo un aumento significativo de la peroxidación lipídica comparada con el grupo testigo. Los animales intoxicados agudamente con el CCl_4 y tratados con 100, 200 y 400 mg/kg de *T. officinale*, respectivamente y colchicina mostraron una hepatoprotección significativa ($p<0.05$). Hubo un decremento de la LPO en los grupos intoxicados que recibieron *T. officinale*. En otro estudio,¹² el nivel incrementado del MDA inducido por el CCl_4 disminuyó con el tratamiento del extracto de flores de dandelion y los autores indicaron que esto podría deberse a la presencia de la luteolina y la luteolina-7-glucósido y otros polifenoles con actividad antioxidante.

El tratamiento con *T. officinale*, a la dosis de 200 y 400 mg/kg revirtió la hepatotoxicidad inducida por el CCl_4 . You y col., (2010)²⁹ obtuvieron la prevención del aumento de la peroxidación lipídica que podría ser debido a la capacidad de *T. officinale* de captar radicales libres.

En los grupos de animales intoxicados con CCl_4 , las actividades de la glutatión peroxidasa y la catalasa se incrementaron significativamente comparadas con los grupos testigo (Figs. 4 y 5). Ninguna de las tres dosis utilizadas de *T. officinale* disminu-

yeron este incremento y las actividades de la catalasa, la glutatión peroxidasa permanecieron con valores muy semejantes a los del grupo de CCl₄. You y cols (2010)²⁹ obtuvieron resultados semejantes a los de este estudio: la administración de etanol más la raíz de *T. officinale* a ratones aumentó significativamente las actividades de la catalasa, la glutatión-S-transferasa, la glutatión peroxidasa y el glutatión comparadas con los ratones que recibieron sólo etanol. Nuestro estudio se realizó con la parte aérea de la planta, no con la raíz como estos autores. Otros investigadores obtuvieron resultados similares a los obtenidos en nuestro estudio. Ellos evaluaron el efecto hepatoprotector del ácido salvianólico A, (antioxidante) y la hepatotoxicidad inducida por el CCl₄³¹ y también observaron la disminución en el nivel de la peroxidación lipídica hepática combinada con una elevación de la superóxido dismutasa y el glutatión. Sin embargo, otros autores³² encontraron que el CCl₄ disminuyó significativamente las actividades de la SOD y GPx pero el antioxidante pycnogenol evitó la disminución. En nuestro estudio, el extracto acuoso del dandelion elevó la actividad de la CAT y la GPx, probablemente al ejercer un efecto hepatoprotector, lo mismo ha sido sugerido para *A. indica* que incrementó la actividad de estas enzimas antioxidantes.³³

En otro estudio,³⁴ ENA Actimniral Resource A (ENA-A) indujo una disminución de la producción de ROS y la peroxidación lipídica, así como un incremento de las actividades antioxidantes, incluyendo el glutatión y la catalasa en el daño hepático subagudo inducido por CCl₄. En nuestro estudio, el aumento de la CAT, la GPx y la LPO podría ser debido al aumento de la generación de las ROS inducidas por el CCl₄ y podría indicar un estado antioxidante elevado para neutralizar el impacto de las ROS. El aumento de la CAT en el homogeneizado de hígado en las ratas tratadas con CCl₄ y *T. officinale* podría reflejar la liberación de la enzima debido al daño hepático o un incremento en la síntesis de *novo* de la enzima.

El valor basal de la bilirrubina total y directa fue de 0.19 ± 0.03 y 0.08 ± 0.03 mg/dl, respectivamente. El CCl₄ indujo un incremento del 105% y del 125% (0.39 ± 0.02 y 0.18 ± 0.04 mg/dl), respectivamente, en ambas bilirrubinas (tabla 1). *T. officinale* a las dosis de 100, 200 y 400 mg/kg y la colchicina normalizaron completamente el incremento de la bilirrubina directa pero el tratamiento con *T. officinale* a la dosis de 100 y 200 mg/kg no disminuyó la concentración de la bilirrubina total, ya que los valores correspondientes, 0.29 ± 0.04 y 0.25 ± 0.04 fueron diferentes a los valores del grupo testigo y del grupo tratado con CCl₄.

Resultado similares fueron obtenidos por Ahsan y colaboradores³⁵ en ratas intoxicadas con CCl₄ y tratados con

extractos metanólicos de diferentes especies vegetales, la bilirrubina total se incrementó de 0.77 ± 0.35 mg/dL en el grupo testigo a 1.04 ± 0.01 mg/dL después de la intoxicación con CCl₄. La administración de los extractos de las diferentes especies a las ratas tratadas con CCl₄ redujo la bilirrubina total a valores cercanos al grupo testigo.

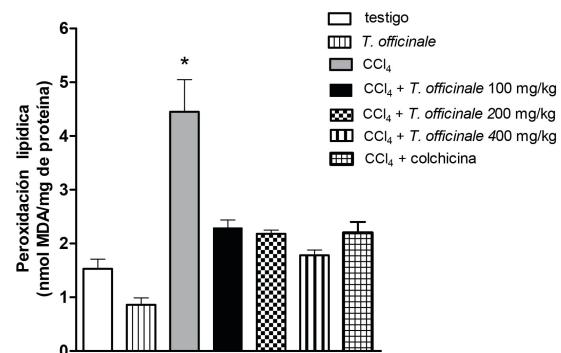


Figura 3. Efecto de *T. officinale* en la peroxidación lipídica hepática, tres días después de la intoxicación aguda con CCl₄. Cada valor representa la media + el error estándar de 6 a 8 ratas en ensayos por duplicado. * P<0.05 con respecto al grupo testigo. ^a P<0.05 con respecto al grupo tratado con CCl₄.

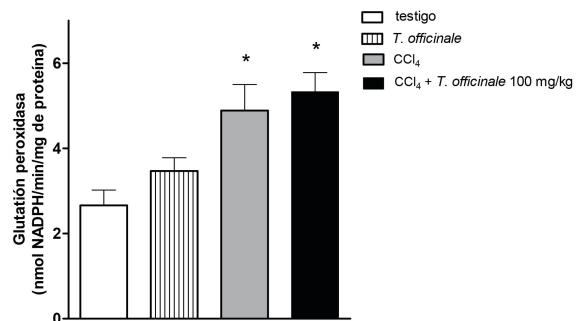


Figura 4. Efecto de *T. officinale* en la actividad hepática de la GPx, tres días después de la intoxicación aguda con CCl₄. Cada valor representa la media + el error estándar de 6 a 8 ratas en ensayos por duplicado. * P<0.05 con respecto al grupo testigo. ^a P<0.05 con respecto al grupo tratado con CCl₄.

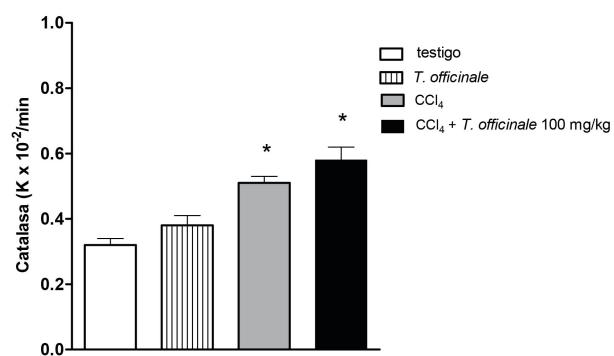


Figura 5. Efecto de *T. officinale* en la actividad hepática de la CAT, tres días después de la intoxicación aguda con CCl₄. Cada valor representa la media + el error estándar de 6 a 8 ratas en ensayos por duplicado. * P<0.05 con respecto al grupo testigo. ^a P<0.05 con respecto al grupo tratado con CCl₄.

La bilirrubina directa también se redujo al valor del testigo. En nuestro estudio, *T. officinale* previno el efecto del CCl₄ en los niveles de la bilirrubina sérica total sólo a la dosis de 400 mg/kg pero a las dosis de 200 y 400 mg/kg, la concentración de la bilirrubina directa fue similar al testigo y es razonable sugerir que *T. officinale* limitó la severidad del daño hepático ya que redujo los niveles de la bilirrubina en una forma dependiente de la dosis. También se observó un incremento significativo de las enzimas antioxidantes y un decremento de la LPO en los grupos intoxicados que recibieron *T. officinale*.

Contenido de fenoles y de flavonoides totales, así como la actividad antioxidante del extracto de *T. officinale* por la actividad captadora del radical libre DPPH.

En la tabla 2, se muestra que el extracto acuoso de *T. officinale* contiene más fenoles que flavonoides y que su actividad captadora del radical DPPH· fue moderada, menor que la de la quercetina. El mismo resultado se obtuvo con el extracto etanólico de *Grewia tenax* (Forssk) en la intoxicación con CCl₄ en ratas²⁸. Este extracto demostró una moderada habilidad de atrapamiento del DPPH· (21%) comparado con el alto efecto del ácido ascórbico (96%).

Tabla 2. Contenidos de los fenoles (CFT) y los flavonoides (CFLT) totales, así como la actividad antioxidante del extracto de *T. officinale* por la actividad captadora del radical libre DPPH.

muestra	^a CFT (mg QE/ g de liofilizado)	^b CFLT (mg QE/ g de liofilizado)	^c Actividad captadora de DPPH· (%)
Liofilizado de <i>T. officinale</i>	52.8 ± 0.3	4.6 ± 0.09	32.8 ± 2.7
Quercetina	-	-	97.34±0.23

Los valores muestran la media ± el error estándar de tres replicaciones, (n= 6).

^a Los contenidos de los fenoles y ^bde los flavonoides totales, se expresaron como mg de equivalentes de quercetina (QE) por g de liofilizado. ^cActividad captadora de los radicales de DPPH· por el liofilizado a la concentración de 0.5 mg/mL de agua.

El mecanismo exacto por el cual *T. officinale* ejerce su efecto hepatoprotector es desconocido. Sin embargo, podría suponerse que las actividades hepatoprotectoras contra el tetracloruro de carbono podrían deberse a la estabilización de la membrana celular, la regeneración de las células hepáticas y la activación de las enzimas antioxidantes tal como la catalasa y la glutatión peroxidasa. El estrés oxidativo es uno de los mecanismos involucrados en la hepatotoxicidad aguda del CCl₄. Varias sustancias naturales presentes en las plantas superiores son antioxidantes. Entre ellas, los compuestos fenólicos como los

flavonoides, los taninos, las cumarinas, las xantonas y las procianidinas pueden atrapar radicales libres.³⁶ *T. officinale* contiene varios flavonoides tales como la quercetina, la luteolina y la luteolina-7-O-glucósido,¹² las dos últimas con capacidad para atrapar radicales libres³⁷ y la quercetina con acción protectora contra el daño hepático inducido por el alcohol.^{33,38}

El hígado por las funciones que desempeña está expuesto a numerosos compuestos de diferente naturaleza y se ha propuesto recientemente que dentro de las propiedades que presenta *T. officinale* está la de mantener la salud del hígado, se ha supuesto que puede aumentar el flujo biliar y evitar la hepatitis y la ictericia.³³

Conclusiones

El presente estudio confirma la acción hepatoprotectora y antioxidante de *T. officinale* contra la inducción del daño hepático por el CCl₄, a diferencia con otros estudios en el nuestro se utilizó la parte aérea, que es la usada comúnmente por la población y en particular en la comunidad encuestada durante el estudio etnobotánico. Con estos resultados se confirma el uso de la especie en la Medicina Tradicional para padecimientos hepáticos.

Agradecimientos

Los autores agradecen la valiosa colaboración y asistencia técnica de Ma. Teresa García Camacho. Esta investigación fue parcialmente apoyada por la Secretaría de Investigación y Posgrado del IPN. S. Pablo-Pérez tiene beca de CONACYT, número 237225, México.

Referencias

1. Day CP. Alcohol and the liver. Medicine. 2007; 35:22-25.
2. Abajo FJD, Montero D, Modurga M, Rodríguez LAG. Acute and clinically relevant drug-induced liver injury: a population based case-control study. Br J Clin Pharmacol. 2004; 58:71-80.
3. Joanne L, Thanavarao ACNP-BC. An overview of drug-induced liver injury. J Nat Prod. 2011; 7(10): 819-826.
4. Gurpreet K, Sarwar AM, Zoobi J, Kaleem J, Mohammed A. Evaluation of antioxidant activity of *Cassia seamea* flowers. J Ethnopharmacol. 2006; 108:340-348.
5. Weber LW, Boll M, Stampl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of holoalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. Crit Rev Toxicol. 2003; 22:105-136.

6. Seitz HK, Stickel F. Risks factors and mechanism of hepatocarcinogenesis with special emphasis on alcohol and oxidative stress. *Biol Chem.* 2006; 387:349-360.
7. Botsoglou NA, Taitzoglou IA, Botsoglou E, Lavrentiadou SN, Kokoli AN, Roubies N. Effect of long-term dietary administration of oregano on the alleviation of carbon tetrachloride induced oxidative stress in rats. *J Agric Food Chem.* 2008; 56: 6287-6293.
8. Yang L, Wang CZ, Ye JZ, Li HT. Hepatoprotective effects of polyphenols from *Ginkgo biloba* L. leaves on CCl₄- induced hepatotoxicity in rats. *Fitoterapia.* 2011; 82: 834-840.
9. Wel-Yun Y, Yu-Quin L, Haji-Akber A, Xue-Lei X, Totahon Z, Yan M, Meng-Ying H, Lei X, Rui-Ping Z. Hepatoprotective activities of a sesquiterpene-rich protection from the aerial part of *Cichorium glandulosum*. *Chin Med.* 2012; 7: 21-33.
10. Schultz K, Carle R, Shieber A. *Taraxacum*- A review on its phytochemical and pharmacological profile. *J Ethnopharmacol.* 2006;107: 313-323.
11. Argueta VA, Cano AMC, Rodarte ME. *Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana.* 1^a. Ed. México: Instituto Nacional Indigenista; 1994, p. 1374-1380.
12. Hu C, Kitts DD. Antioxidant, prooxidant and cytotoxic activities of solvent-fractionated dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extracts in vitro. *J Agric Food Chem.* 2003; 51(1): 301-310.
13. Seo SW, Koo HN, An HJ, Kwon KB, Lim BC, Seo EA, Ryu DG, Moo G, Kim HY, Kim HM, Hong SH. *Taraxacum officinale* protects against cholecystokinin-induced acute pancreatitis in rat. *World J Gastroenterol.* 2005;11: 597-599.
14. Rzedowski J, Rzedowski G. *Flora fanerógama del Valle de México.* 2^a. Ed. México: Instituto de Ecología A.C.; 2001, p. 622-624.
15. Zheng W, Wang SY. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J Agric Food Chem.* 2001; 49: 5165-5170.
16. Domínguez XA. *Métodos de investigación fitoquímica* 2^a. Ed. México: Limusa; 1978, p. 39-44.
17. NOM-062-Z00 (1999). Norma Oficial mexicana que determina las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Poder ejecutivo. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Diario oficial lunes 6 de diciembre1999.
18. Reitman S, Frankel SA. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol.* 1957; 28: 56-63.
19. Grossman M, Neville D. γ -glutamyltransferase in kidney brush border membranes. *FEBBS letters.* 1972; 19: 340-344.
20. Berger L, Rudolph GN. Alkaline and acid phosphatases. In: *Standard Methods of Clinical Chemistry.* Meites E, editor. New York: Academic Press, 1963. p. 56.
21. Cohen G, Dembiec D, Marcus J. Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Biochemistry.* 1970; 34: 30-38.
22. Lawrence RA, Burk R. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun.* 1976; 71: 952-958.
23. Buege A, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978; 53: 302-310.
24. Xu ZS, Tang MT, Li YA, Liu FF, Li XM, Dai RT. Antioxidant properties of Du-zhong (*Eucommia adenoides* oliv.) extracts and their effects on color stability and lipid oxidation on raw park patties. *J Agric Food Chem.* 2010; 58: 7289-7296.
25. Kim DO, Chun OK, Kim YJ, Moon HY, Lee CY. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J Agric Food Chem.* 2003; 51: 6509-6515.
26. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976; 72: 248-254.
27. Brown BW, Hollander M. Statistics: A biomedical introduction. In: *Analysis of K-Sample Problems*, Brown BW, Hollander M, editores. New York: John Wiley; 1977. p. 225-233.
28. Al-Said MS, Mothana RA, Al-Sohaibani MO, Rafatullah S. Ameliorative effect of *Grewia tenax* (Forssk) fiori fruit extract on CCl₄-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *J Food Sci.* 2011; 76(9): T200-T206.
29. You Y, Yoo S, Yoon HG, Park J, Lee YH, Kim S, Oh KT, Lee J, Cho HY, Jun W. *In vitro* and *in vivo* hepatoprotective effects of the aqueous extract from *Taraxacum officinale* (dandelion) root against alcohol-induced oxidative stress. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48: 1632-1637.
30. Park CM, Youn HJ, Chang HK, Song YS. TOP1 and 2, polysaccharides from *Taraxacum officinale*, attenuate CCl₄-induced hepatic damage through the modulation of NF- κ B and its regulatory mediators. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48: 1255-1261.
31. Wu ZM, Wen T, Tan YF, Liu Y, Ren F, Wu H. Effects of salvianolic acid on oxidative stress and liver injury induced by carbon tetrachloride in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2007; 100: 115-120.
32. Yang YS, Ahn TH, Lee JC, Moon CJ, Kim SH, Jun W, Park SC, Kim HC, Kim JC. Protective effects of pycnogenol on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol.* 2008; 46: 380-387.
33. Kashaw V, Nema AK, Agarwal A. Hepatoprotective prospective of herbal drugs and their vesicular carrier-A Review. *Int J Res Pharm Biomed Sci.* 2011; 2 (2):360-374.

34. Hong IH, Ji H, Hwa SY, Jeong WI, Jeong DH, Do SH, Kim JM, Ki MR, Park JK, Goo MJ, Hwang OK, Hong KS, Han JY, Chung HY, Jeong KS. The protective effect of ENA Actiminerol Resource A on CCl₄-induced liver injury in rats. *Mar Biotechnol.* 2010; 13 (3): 462-473.
35. Ahsan R, Islam KM, Musaddik A, Haque E. Hepatoprotective activity of methanol extract of some medicinal plants against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in albino rats. *Glob J Pharmacol.* 2009; 3(3): 116-122.
36. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod.* 2000; 63: 292-297.
37. Rodriguez-Fragoso L, Reyes-Esparza J, Burchiel SW, Herrera-Ruiz D, Torres E. 2008. Risks and benefits of commonly used herbal medicines in Mexico. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008; 227: 125-135.
38. Molina MF, Sánchez-Ruiz I, Iglesias L, Benedeti J. Quercetin; a flavonoid antioxidant prevents and protects against ethanol induced oxidative stress in mouse liver. *Biol Pharmacol Bull.* 2003; 26: 1398-1402.