

TRATAMENTO HOMEOPÁTICO DA HEPATOTOXICOSE AGUDA INDUZIDA POR TETRACLORETO DE CARBONO EM COELHOS

HOMEOPATHIC TREATMENT OF ACUTE CARBON TETRACHLORIDE INDUCED HEPATOTOXICITY IN RABBITS

Maria Cecília Ribeiro Moncorvo¹ Cândido Fontoura da Silva² Sônia Terezinha dos Anjos Santos³
Alexander de Oliveira El-Warrak⁴ Silvana Sebalhos⁵

RESUMO

Quinze (15) coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) foram submetidos à intoxicação pelo tetracloreto de carbono na dosagem de 0,5 ml/kg de peso corporal, dose única, administrado por sonda gástrica. Foram realizadas as dosagens de alanina amino transferase (ALT), aspartato amino transferase (AST), fosfatase alcalina (FA) e gama glutamil transferase (GGT) antes e durante o experimento. Vinte e quatro (24) horas após a intoxicação, os coelhos foram divididos aleatoriamente em três grupos de 5 animais. Cada grupo recebeu um tratamento diferente durante 13 dias. O grupo I foi tratado com tetracloreto de carbono diluído na 30ª centesimal hahnemanniana (30 CH), uma vez ao dia. O grupo II recebeu Phosphorus 30 CH, também uma vez ao dia. O grupo III desempenhou o papel de controle, recebendo diariamente uma dose de placebo, pelo mesmo período de tempo que os grupos anteriores. Os resultados das concentrações séricas de ALT, AST, GGT e FA foram submetidos à análise estatística. A variação da concentração de todas as enzimas foi significativa entre os dias, mas nem todas variaram significativamente entre os grupos considerados. O tetracloreto de carbono 30 CH foi capaz de acelerar a recuperação do quadro de hepatite tóxica aguda determinada pela redução dos níveis de ALT. O tratamento com Phosphorus 30 CH mostrou-se incapaz seja de reverter o quadro de hepatite tóxica, seja de acelerar a regeneração hepática.

Palavras-chave: tetracloreto de carbono, hepatotoxicidade, homeopatia.

SUMMARY

Fifteen (15) New Zealand and Californian rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) were submitted to intoxication with carbon tetrachloride in a dose of 0.5 ml/kg, once a day, adminis-

tered by orogastric sonde. Enzymatic parameters: alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase and gamma-glutamyltransferase of those rabbits were tested before and during the experiment. After the intoxication, the rabbits were divided in three groups of five animals. Each group received different treatments during 13 days. The animals in group I were treated with carbon tetrachloride 30 CH, once a day. The animals in group II were treated with Phosphorus 30 CH also once a day. The rabbits in group III served as a control receiving the same quantity of placebo with the same protocol of the others. The blood samples were obtained by cardiac puncture every 4 days. The seric concentrations of ALT, AST, GGT and FA were submitted to statistical evaluation. The variation of all enzymes tested was significant between the days, but not always between the groups. This study demonstrated that carbon tetrachloride 30 CH was efficient in accelerating the recuperation of normal levels of ALT, but the therapy with Phosphorus 30 CH was insufficient for reverting the hepatic intoxication.

Key words: carbon tetrachloride, hepatotoxicity, homeopathy.

INTRODUÇÃO

Diversas substâncias têm sido experimentalmente utilizadas com função hepatoprotetora ou de estimulação da regeneração hepática. Dentre essas substâncias incluem-se complexos vitamínicos e estimulantes do metabolismo hepático. Drogas hepatoprotetoras, como a silimarina (HAKOVÁ & MISUROVÁ, 1993), vêm sendo amplamente estu-

¹Aluna de Mestrado em Clínica Médica da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Rua Soares Cabral, 80/1001, 22240-070 - Rio de Janeiro, RJ. E-mail: seamonc@pcshop.com.br. Autor para correspondência.

²Professor Titular do Departamento de Pequenos Animais da UFSM, Santa Maria, RS.

³Professor Adjunto do Departamento de Pequenos Animais da UFSM, Santa Maria, RS.

⁴Professor Substituto de Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Campus Avançado de Palotina, PR.

⁵Bolsista da PRAE, aluna da graduação em Medicina Veterinária da UFSM, Santa Maria, RS.

dadas quanto à sua eficácia. Outras substâncias hepatoprotetoras já estudadas são os extratos de plantas (OSHIMA *et al.*, 1995, KO *et al.*, 1995, SUBRATA DE *et al.*, 1994, LIN *et al.*, 1993, SINGH *et al.*, 1993, SEN *et al.*, 1993) e as drogas anti-oxidantes (MECCA *et al.*, 1993). O efeito hepatoprotetor dessas substâncias foi determinado pela redução significativa dos níveis de transaminases, além de melhor aspecto anátomo-patológico dos animais tratados em relação aos controles. Os animais tratados apresentaram menor grau de necrose hepática. Alguns autores referem-se, ainda, à proteção hepática mediante procedimento cirúrgico como a hepatectomia parcial, que estimularia a regeneração do fígado mediante a proliferação de hepatócitos (BELL *et al.*, 1988).

Experimentos homeopáticos também foram realizados na área da terapia hepática. BILDET *et al.* (1984c) estudaram a ação do *Phosphorus* 7 CH e do *Phosphorus* 15 CH sobre a hepatite tóxica induzida pelo tetracloreto de carbono em ratos. Observaram uma diferença bastante significativa (da ordem de 20% a menos) na evolução das transaminases séricas (alanina amino transferase e aspartato amino transferase) no grupo de animais tratados com *Phosphorus* 7 CH, em relação aos animais controles. Este trabalho permitiu demonstrar que o tratamento curativo com a ajuda de *Phosphorus* acarreta uma melhora no metabolismo enzimático em ratos com hepatotoxicidade. Quanto mais a concentração sérica das enzimas retorna a níveis satisfatórios nos animais tratados, mais rapidamente os animais ficam curados.

BILDET *et al.* (1984a) demonstraram que doses infinitesimais de CCl₄ são capazes de induzir resistência frente à administração posterior de uma dose tóxica da mesma substância. BILDET *et al.* (1984b) estudaram, ainda, a ação preventiva do *Phosphorus* 7 CH e 15 CH, administrados previamente à intoxicação pelo CCl₄. Os resultados bioquímicos e anatomopatológicos demonstraram que o *Phosphorus*, nas diluições 7 CH e 15 CH, apresenta real efeito hepatoprotetor. Esses medicamentos são utilizados tanto no sentido de prevenir a instalação de hepatopatia como de tratá-la. A terapia homeopática repousa essencialmente sobre a lei da similitude entre ação tóxica ou patogênica e a ação terapêutica (BILDET *et al.*, 1984a).

As características clínicas das intoxicações agudas e fatais são pouco consistentes, qualquer que seja a origem da toxina. O animal evolui para o óbito após um breve período de vertigem, anorexia e cólicas, além de ampla variedade de distúrbios neurológicos, incluindo-se convulsões atribuídas à encefalopatia hepática (KELLY, 1993).

A dosagem da concentração das enzimas ALT, AST, FA e GGT permite averiguar a presença

de alteração da permeabilidade dos hepatócitos pela elevação de ALT e AST, bem como de desordens colestáticas pela elevação de FA e GGT (HUGHES & KING, 1995). Geralmente, a magnitude do aumento da concentração de uma determinada enzima, em particular, está correlacionado com o número de hepatócitos afetados (DUNN, 1992 e DIAL, 1995). A lesão hepatocelular, independentemente da causa (inflamatória, degenerativa ou neoplásica), está geralmente associada a certo grau de colestase, pois os hepatócitos se dilatam, obstruindo os canalículos biliares (DUNN, 1992).

Após necrose hepatocelular difusa, aguda e acentuada, os valores séricos de ALT e AST aumentam bruscamente (CENTER, 1988, CORNELIUS, 1989, BUSH, 1991). A FA é uma enzima ligada à membrana celular, estando presente em diversos tecidos. Na necrose hepatocelular aguda, a FA não é prontamente liberada e a elevação de sua concentração é resultante do aumento de sua síntese (DIAL, 1995). A atividade sérica da GGT se eleva como resultado de colestase intra e extra-hepática. Em cães, as elevações da GGT sérica estão tipicamente associadas à elevação da FA (CENTER, 1988).

Conhecendo-se a similitude existente, tanto no plano clínico-biológico como no anatomo-patológico, entre as intoxicações pelo tetracloreto de carbono e pelo fósforo (BILDET *et al.*, 1984c), pareceu-nos interessante aplicar, nesta pesquisa, a lei de similitude ao produzir hepatite tóxica em coelhos pelo tetracloreto de carbono e tratá-los com o tetracloreto de carbono e o fósforo diluídos.

O presente trabalho teve, como objetivos, induzir hepatite tóxica em coelhos através da administração de tetracloreto de carbono e, posteriormente, avaliar a eficiência do emprego do próprio tetracloreto de carbono e do *Phosphorus*, diluídos na 30ª centesimal hahnemanniana (30 CH), no seu tratamento. A metodologia utilizada, de que consta a análise de parâmetros bioquímicos séricos, mostra que se trata de pesquisa científica em homeopatia, procurando-se valorizar a aplicabilidade clínica desta especialidade médica, assim como difundir seu conhecimento e torná-la acessível aos médicos veterinários.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados no experimento 15 (quinze) coelhos, sendo oito da raça Nova Zelândia e sete da raça Califórnia; nove machos e seis fêmeas, todos adultos, com a idade variando entre 2 e 4 anos e o peso oscilando entre 2,0 e 4,0kg e provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Foram realizadas as dosagens dos valores enzimáticos séricos (ALT, AST, FA e GGT) antes e no decorrer do experimento. Anteriormente ao experimento, foram realizadas três colheitas, com intervalos semanais entre elas, para a determinação dos valores enzimáticos considerados normais para os animais, que se prestaram como controle deles próprios.

Os animais foram submetidos à intoxicação pelo tetracloreto de carbono^a na dosagem de 0,5 ml/kg de peso, dose única, administrado por sonda gástrica. Os animais eram sedados 20 minutos antes de serem sondados e de receberem o agente tóxico. Para tal, utilizou-se ketamina^b na dosagem de 8 mg/kg de peso, associada à xilazina^c na dosagem de 3mg/kg de peso, por via intramuscular. O tetracloreto de carbono foi administrado diluído em óleo de milho^d na proporção de 50%.

Vinte e quatro (24) horas após a intoxicação, os coelhos foram divididos aleatoriamente em três grupos. Cada grupo recebeu um tratamento distinto durante 13 dias consecutivos. O grupo I foi tratado com tetracloreto de carbono diluído na 30^a centesimal hahnemaniana (30 CH)^e, uma vez ao dia. O grupo II recebeu *Phosphorus* 30 CH^f, também uma vez ao dia. O grupo III desempenhou o papel de controle, recebendo diariamente uma dose de placebo^f, pelo mesmo período de tempo que os grupos anteriores.

As dosagens enzimáticas iniciaram-se no dia seguinte àquele da intoxicação. Foram estas repetidas a cada 4 dias, até o 13^o dia. O sangue era colhido mediante punção cardíaca. As dosagens de transaminases (ALT e AST) e fosfatase alcalina (FA) foram realizadas segundo o método colorimétrico, utilizando-se "kits" comerciais^g, e a absorbância determinada por espectrofotômetro 21^h. A dosagem da GGT foi realizada mediante método cinéticoⁱ, utilizando-se enzímômetro^j.

Após o experimento, realizou-se a análise estatística de todos os valores obtidos de ALT, AST, GGT e FA. Aplicou-se a análise de Correlação e de Variância entre as variáveis dependentes. Em complemento, avaliou-se o grau de significância entre grupos e dias, bem como a interação entre eles através do teste F.

RESULTADOS

O sinal clínico mais evidentemente observado durante o experimento foi anorexia. Todos os animais, no dia seguinte à intoxicação, mostraram-se anoréxicos e alguns estavam, também, deprimidos. O apetite retornou ao normal 48 horas após. À palpação abdominal não se observou hepatomegalia

nem sensibilidade. As mucosas mantiveram-se coradas, sem evidência de icterícia ao longo de todo o experimento.

Foi realizada a correlação linear entre as variáveis dependentes (ALT, AST, GGT e FA). Houve correlação significativa entre os valores séricos das variáveis ALT e AST; e entre AST e FA. Após 24 horas de intoxicação, os níveis médios de ALT e AST aumentaram acentuadamente em todos os animais (Tabelas 1 e 2).

As variações de ALT foram altamente significativas entre os dias ($p < 0,01$) e significativa entre os grupos ($p < 0,05$). A variação (entre dias) foi significativa entre os dias 0, 1 e 5 para os grupos I e II; e entre os dias 0 e 1 para o grupo III. A redução dos valores de ALT mostrou-se mais acelerada no

Tabela 1 - Médias aritméticas dos valores de ALT- alanina amino transferase (UI/l), obtidos dos soros de todos os coelhos dos grupos I, II e III, no dia 0 (antes da intoxicação) e no 1^o, 5^o, 9^o e 13^o dia após a intoxicação pelo tetracloreto de carbono.

DIAS DE COLHEITAS	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III
00	61,8	58,2	42,2
01	2928,0	1836,0	936,0
05	620,0*	696,0*	362,0*
09	197,8*	209,2*	154,8*
13	60,8	50,0	46,0

GRUPO I - Animais tratados pelo Tetracloreto de carbono 30 CH.

GRUPO II - Animais tratados pelo Phosphorus 30 CH

GRUPO III - Animais tratados com placebo

* - variação entre grupos significativa a 5% de probabilidade

Tabela 2 - Valores médios de AST- aspartato amino transferase (UI/l) dos coelhos dos grupos I, II e III, nos dias 0, 1, 5, 9 e 13 do experimento.

DIAS DE COLHEITAS	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III
00	64,0	60,6	66,6
01	5316,0	7260,0	8436,0
05	136,4 ^{ns}	305,6 ^{ns}	186,4 ^{ns}
09	92,0 ^{ns}	61,8 ^{ns}	195,2 ^{ns}
13	77,4	42,4	70,4

GRUPO I - Animais tratados pelo Tetracloreto de carbono 30 CH

GRUPO II - Animais tratados pelo Phosphorus 30 CH

GRUPO III - Animais tratados com placebo

ns - variação entre grupos não significativa

grupo I. A alteração de AST somente foi significativa para os dias 0 e 1 ($p < 0,01$), não sendo significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

Os valores normais de GGT encontrados variaram entre 2 a 15 UI/l. E os de FA variaram entre 27,1 e 127 UI/l. Os valores médios alcançados por estas enzimas ao longo do experimento estão expostos nas tabelas 3 e 4. A variação de GGT, durante os dias, foi significativa ($p < 0,01$) segundo a análise de variância, assim como a variação entre os grupos ($p < 0,01$). A variação da concentração desta enzima, mesmo sendo significativa estatisticamente, só teve relevância do ponto de vista clínico no 9º dia, quando se apresentaram acima dos valores normais, previamente determinados, nos grupos I e II. A FA sofreu variação significativa de acordo com os dias e com relação aos grupos. A fosfatase alcalina teve seus valores médios, elevando-se 24 horas após a intoxicação em todos os grupos. A normalização

Tabela 3 - Valores médios de GGT- gama glutamil transferase (UI/l) dos coelhos dos grupos I, II e III, nos dias 0, 1, 5, 9 e 13 do experimento.

DIAS DE COLHEITAS	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III
00	6,4	9,0	6,6
01	6,8	4,8	4,5
05	9,8*	12,4*	9,4*
09	18,4*	16,0*	10,0*
13	12,0	7,2	8,8

GRUPO I - Animais tratados pelo Tetracloreto de carbono 30 CH

GRUPO II - Animais tratados pelo Phosphorus 30 CH

GRUPO III - Animais tratados com placebo

* - variação entre grupos significativa a 5% de probabilidade

Tabela 4 - Valores médios de FA- fosfatase alcalina (UI/l) dos coelhos dos grupos I, II e III, nos dias 0, 1, 5, 9 e 13 do experimento.

DIAS DE COLHEITAS	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III
00	77,6	62,8	77,8
01	125,0	99,1	146,3
05	64,2*	51,8*	94,8*
09	63,1*	38,5*	94,6*
13	51,6	36,7	59,4

GRUPO I - Animais tratados pelo Tetracloreto de carbono 30 CH

GRUPO II - Animais tratados pelo Phosphorus 30 CH

GRUPO III - Animais tratados com placebo

* - variação entre grupos significativa a 1% de probabilidade

de sua concentração começou no 5º dia após a administração do tetracloreto de carbono.

DISCUSSÃO

A terapia homeopática utilizada, visando ao período após a intoxicação provocada, difere da conduta usual da maioria dos autores que preconizam o tratamento preventivo: BILDET *et al.* (1984b); KO (1995); BRAIDE (1991); LEXA *et al.* (1990); SEN *et al.* (1992); SINGH *et al.* (1993) e LIN *et al.* (1993). Optou-se por empregar o próprio tetracloreto de carbono diluído tal como fizeram BILDET *et al.* (1984a); e o Phosphorus, segundo BILDET *et al.* (1984c). No entanto, a diluição dos medicamentos 30 CH difere das diluições dos medicamentos utilizados pelos autores antes citados, que foram 7 CH e 15 CH.

A sintomatologia apresentada pelos animais foi bastante semelhante àquela descrita por KELLY (1993). Os índices de hepatotoxicidade basearam-se nas concentrações séricas das enzimas ALT, AST, GGT e FA, que variaram ao longo do experimento.

A administração do CCl₄, na dosagem de 0,5 ml/kg, causou lesão hepática que pode ser evidenciada pelo aumento significativo de ALT e AST séricas, concordando com os estudos de ISOGAI *et al.* (1994), CENTER (1998) e HUGHES & KING (1995). Pode-se afirmar que, de acordo com os níveis séricos das transaminases evidenciados, uma grande quantidade de hepatócitos estavam acometidos, como afirmaram DUNN (1992) e DIAL (1995).

Ocorreu aumento da concentração de FA, a níveis acima do normal, somente no dia seguinte à administração de CCl₄, podendo-se evidenciar uma colestase branda (DIAL, 1995). Não ocorreu elevação de GGT concomitantemente à elevação da FA, como refere CENTER (1998).

O tratamento com *Phosphorus* 30 CH não causou redução significativa nos níveis séricos das transaminases, como foi alcançado no estudo de BILDET *et al.* (1984c) com o uso de *Phosphorus* 7 CH. No entanto, o resultado obtido com o uso de tetracloreto de carbono 30 CH foi satisfatório quanto à redução das transaminases. O mesmo se observa no trabalho de KO *et al.* (1995), com terapia hepatoprotetora, utilizando o extrato de *Schisandra chinenses*, que causou regressão significativa da ALT.

A análise estatística comprovou a existência de variação significativa das enzimas ALT, FA e GGT entre os grupos. No entanto, a variação de FA e GGT não se mostrou muito além de seus valores normais. Todas as enzimas variaram signi-

ficativamente entre os dias. Esta variação foi mais evidente entre os dias 0 e 1. Somente a redução significativa da enzima ALT no grupo I pode representar um aspecto favorável do uso do tetracloreto de carbono 30 CH no tratamento da hepatotoxicose. O uso do tetracloreto de carbono diluído pode ter acelerado o processo de regeneração hepática.

O presente estudo demonstra que o tetracloreto de carbono, administrado na dosagem de 0,5 ml/kg de peso, por via sonda gástrica, em dose única, em animais em jejum e sob sedação, é capaz de causar acentuada hepatite tóxica aguda em coelhos, enquanto o tratamento com *Phosphorus* 30 CH não foi capaz de acelerar a reversão do quadro de hepatite tóxica com a redução dos níveis de transaminases. No entanto, o tratamento com tetracloreto de carbono 30 CH foi capaz de acelerar a recuperação dos níveis séricos normais da ALT.

FONTES DE AQUISIÇÃO

- a - Vetec Química Fina Ltda.; Rua do Rocha, 168 - Rio de Janeiro, RJ.
- b - Laboratório Kösing do Brasil; Av. Indianópolis, 2875 - São Paulo, SP.
- c - Bayer do Brasil S.ª; Rua Domingos Jorge, 1000 - São Paulo.
- d - Refinação de Milho Brasil Ltda.; Av. Prefeito Olavo Gomes, 3701- Pouso Alegre, MG.
- e - Farmácia Homeopática de Faria Ltda.; Rua Barata Ribeiro, 550- Rio de Janeiro, RJ.
- f - Homeopatia Natural; Rua Artur Bernades, 26-B- Rio, RJ
- g - Química Básica Ltda.; Rua Teles Menezes, 92- Belo Horizonte, MG.
- h - Milton Roy Co./ Analytical Products Division; 280, Lindon Avenue-Rochester, NY, 4625.
- i - Companhia equipadora de Laboratórios Modernos; Al. Amazonas, 764- Barueri, SP.
- j - Quick Lab. AD/ Drake; Rua Vicente Ferreira Gomes, 174- Porto Alegre, RS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BILDET, J., AUBIN, M., BARONNET, S., *et al.* Résistance de la cellule hépatique du rat après une intoxication infinitésimale au tétrachlorure de carbone. **Homéopathie Française**, 1984a, tome 72, n. 3-4, p. 175-181.
- BILDET, J., GUERE, J.M., SAUREL, J., AUBIN, M. *et al.* Etude de l'action préventive de différentes dilutions de *Phosphorus* sur l'hépatite toxique du rat. **Homéopathie Française**, 1984b, tome 72, n. 3-4, p. 205-209.
- BILDET, J., GUERE, J.M., SAUREL, J., DEMARQUE, D. *et al.* Etude de l'action de différentes dilutions de *Phosphorus* sur l'hépatite toxique du rat. **Homéopathie Française**, 1984c, tome 72, n. 3-4, p. 199-204.
- BRAIDE, V.B. Antihepatotoxic biochemical effects of kolaviron, a biflavonoid of *Garcinia kola* seeds. **Phytotherapy Research**, v. 5, n. 1, 1991.
- BUSH, B.M. **Interpretation of laboratory results for small animal clinicians**. Oxford: Blackwell scientific publications. 1991, 515 p.

- CENTER, S.A. Avaliação bioquímica da função hepática no cão e gato. In: KIRK, R.W. **Atualização terapêutica veterinária**. São Paulo: Editora Manole, vol. 2, 1988, 1688 p.
- CORNELIUS, C.E. Liver Function. In: KANEKO, J.J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 4. ed. San Diego: Academic Press, 1989, 932 p.
- DIAL, S.M. Clinicopathologic evaluation of the liver. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 25, n. 2, p. 257-273, 1995.
- DUNN, J. Assessment of liver damage and dysfunction. **In Practice**, v. 14, n. 4, p. 193-200, 1992.
- HAKOVÁ, H., MISUROVÁ, E. The effect of silymarin and gamma radiation on nucleic acids in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 45, n. 10, p. 910-912, 1993.
- HUGHES, D., KING, L.G. The diagnosis and management of acute liver failure in dog and cats. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 25, n. 2, p. 257-273, 1995.
- ISOGAI, M., SHIMOKAWA, N., YAMAGUCHI, M. Hepatic calcium-binding protein regulocalcin is released into the serum of rats administered orally carbon tetrachloride. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 131, n. 2, p. 173-179, 1994.
- KELLY, W.R. The Liver and the Biliary System. In: JUBB, K.V.F., PETER, C.K., PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. San Diego: Academic Press, Inc. 4. ed., v. 2, 1993, p. 319-388.
- KO, K.M., IP, S.P., POON, M.K.T., *et al.* Effect of a Lignan-Enriched *Fructus Schisandrae* extract on hepatic Glutathione status in rats: protection against Carbon tetrachloride toxicity. **Planta Med.** v. 61, n. 2, 1995, p. 134 -137.
- LEXA, A., FLEURENTIN, J., YOUNOS, C., MORTIER, F. Study of antihepatotoxicity of *Eupatorium cannabinum* L. in mice. An adequate method of screening *In vivo* antihepatotoxic natural principles. **Phytotherapy Research**, v. 4, n. 4, 1990.
- LIN, C.-C., LIN, M.-L., LIN, J.-M. The antiinflammatory and liver protective effect of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) gray and *Dicliptera chinensis* juss. extract in rats. **Phytotherapy Research**, v. 7, p. 305-309, 1993.
- MECCA, M.M., CASTRO, G.D., CASTRO, J.A. Antioxidative stress therapy with dithiothreitol tetraacetate I. Protection against carbon tetrachloride induced liver necrosis. **Archives of Toxicology**, v. 67, n. 8, p. 547-551, 1993.
- OSHIMA, Y., NAMAOKA, K., KAMIJOU, A., *et al.* Powerful hepatoprotective and hepatotoxic plant oligostilbenes, isolated from the Oriental medicinal plant *Vitis coignetiae* (Vitaceae). **Experientia**, v. 51, p. 63-66, 1995.
- SEN, T., BASU, A., RAY, N., CHAUDHURI, A.K.N. Hepatoprotective effects of *Pluchea indica* (less) extract in experimental acute liver damage in rodents. **Phytotherapy Research**, v. 7, p. 352-355, 1993.
- SINGH, B., SAXENA, A.K., CHANDAN, B.K. *et al.* Hepatoprotective effect of ethanolic extract of *Eclipta alba* on experimental liver damage in rats and mice. **Phytotherapy Research**, v. 7, p. 154-158, 1993.
- SUBRATA DE, RAVISHANKAR, B., BHAVSAR, G.C. An investigation on the hepatoprotective activity of *Gymnosporia montana*. **Planta Med.** v. 60, n. 4, p. 301-304, 1994.