

UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

RED BIBLIOTECARIA MATÍAS

DERECHOS DE PUBLICACIÓN

Basados en

El Reglamento de Graduación de la Universidad Dr. José Matías Delgado

Capítulo VI, Art. 46

“Los documentos finales de investigación serán propiedad de la Universidad para fines de divulgación”

Publicado bajo la licencia Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual de Creative Commons
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>



Se permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra siempre que se especifique el autor y el nombre de la publicación y sin objetivos comerciales, y también se permite crear obras derivadas, siempre que sean distribuidas bajo esta misma licencia

Para cualquier otro uso se debe solicitar el permiso a la Universidad

**UNIVERSIDAD “DR. JOSE MATIAS DELGADO”
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DR. LUIS EDMUNDO VASQUEZ
ESCUELA DE MEDICINA**



**PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN
*PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
DOCTOR EN MEDICINA***

**“EFECTO ORGANOPROTECTOR DE *SOLANUM
TUBEROSUM* EN MODELO AGUDO DE ÚLCERA
GÁSTRICA INDUCIDO POR INDOMETACINA EN
RATONES”**

AUTORES

Rocío Lissette Rodríguez Valencia
Michael Richard Portillo Groger
Fernando Molina Berganza

ASESORA

Lic. María Teresita Bertoli de Masferrer

PATOLOGO

Dr. Nicolás Astacio Soria

2012

Índice

<u>I-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</u>	<u>4</u>
<u>II-JUSTIFICACIÓN Y USO DE RESULTADOS.....</u>	<u>6</u>
<u>III- OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN</u>	<u>8</u>
OBJETIVO GENERAL	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
<u>IV. MARCO TEÓRICO</u>	<u>10</u>
<u>1. FISIOLÓGÍA GÁSTRICA.....</u>	<u>10</u>
1.1. SECRECIÓN GÁSTRICA Y SU CONTROL	10
1.2. SECRECIÓN DE MOCO	11
1.3. MOTILIDAD Y VACIAMIENTO GÁSTRICO	12
1.4. DEFENSAS GÁSTRICAS.....	12
1.5. PROCESO DE CICATRIZACIÓN DE ÚLCERAS GÁSTRICAS.....	17
<u>2. ÚLCERAS GÁSTRICAS.....</u>	<u>20</u>
2.1. EPIDEMIOLOGÍA.....	20
2.2 . FISIOPATOLOGÍA DE ÚLCERAS GÁSTRICAS.....	21
2.2.1. FISIOPATOLOGÍA DE ÚLCERAS GÁSTRICAS POR AINES	23
2.3. DIAGNÓSTICO DE ÚLCERA PÉPTICA.....	26
2.4. TRATAMIENTO ACTUAL DE ÚLCERAS GÁSTRICAS CON FÁRMACOS.	26
2.4.1. FÁRMACOS ANTIÚLCEROSOS	26
2.4.3. COSTO DE MEDICAMENTOS.....	31
2.5 . TRATAMIENTO DE ÚLCERAS GÁSTRICAS CON MEDICINA NATURAL	31
<u>3. SOLANUM TUBEROSUM</u>	<u>32</u>
3.1. GENERALIDADES	32
3.2 . PROPIEDADES Y EFECTOS TERAPÉUTICOS.....	35
3.3. FORMAS DE USO PARA TRATAMIENTO DE ULCERA GÁSTRICA.....	35
<u>4. MÉTODOS DE INDUCCIÓN Y MEDICIÓN DE ÚLCERAS EN RATONES.....</u>	<u>36</u>
4.1. ANATOMÍA DEL RATÓN	36
4.2. MÉTODOS DE INDUCCIÓN DE ÚLCERAS GÁSTRICAS	37
4.3 MÉTODOS DE MEDICIÓN EN LA INDUCCIÓN DE ÚLCERAS GÁSTRICAS EN RATONES	39
4.3.1 MEDICIÓN MACROSCÓPICA	39
4.3.2 MÉTODOS MICROSCÓPICOS (GOLD STANDARD).....	40

4.3.3. MÉTODOS BIOQUÍMICOS	41
<u>HIPÓTESIS DE TRABAJO</u>	<u>45</u>
<u>HIPÓTESIS ESTADÍSTICAS</u>	<u>45</u>
<u>DELIMITACIÓN DEL TEMA</u>	<u>47</u>
<u>V. METODOLOGÍA.....</u>	<u>48</u>
POBLACIÓN:	48
CRITERIOS DE INCLUSIÓN:	48
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:.....	48
DIETA.....	49
PREPARACIÓN DE EXTRACTOS	49
DISEÑO EXPERIMENTAL	50
ESTANDARIZACIÓN DEL MODELO DE ÚLCERA	50
CARACTERIZACIÓN DEL MODELO DE ÚLCERAS INDUCIDAS POR INDOMETACINA.....	50
DETERMINACIÓN DEL EFECTO PROTECTOR DE LA SUSPENSIÓN DE <i>S. TUBEROSUM</i> EN ÚLCERAS GÁSTRICAS INDUCIDAS POR INDOMETACINA	51
OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	52
CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO	55
PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES.....	55
ESTANDARIZACIÓN DEL MODELO DE INDUCCIÓN DE ÚLCERAS	55
EFECTO PROTECTOR	57
PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS	57
RECOLECCIÓN DE CONTENIDO GÁSTRICO POR LIGADURA PILÓRICA	57
EXTRACCIÓN DE CONTENIDO GÁSTRICO.....	58
PROCESAMIENTO DEL ESTÓMAGO.....	58
OBTENCIÓN DE MACERADO DE CÉLULAS GÁSTRICAS PARA DETERMINACIÓN DE MDA	59
ANÁLISIS BIOQUÍMICO.....	59
ANÁLISIS MACROSCÓPICO MEDIANTE ANÁLISIS DIGITAL DE IMÁGENES DE LA SUPERFICIE DEL ESTÓMAGO.....	60
ANÁLISIS MICROSCÓPICO	61
RECOLECCIÓN Y PLAN DE ANÁLISIS DE DATOS.	62
CONSIDERACIONES ÉTICAS	62
<u>RESULTADOS</u>	<u>64</u>
CARACTERIZACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE LOS EXTRACTOS DE <i>S. TUBEROSUM</i>.....	64
CARACTERIZACIÓN DEL MODELO DE INDUCCIÓN DE ÚLCERA POR INDOMETACINA:.....	64
ESTANDARIZACIÓN DEL MODELO DE INDUCCIÓN DE ÚLCERA GÁSTRICA CON INDOMETACINA	66
ESTANDARIZACIÓN DE LA DOSIS DE INDOMETACINA	66
ESTANDARIZACIÓN MÉTODOS BIOQUÍMICOS.....	70
EFECTO DE LA PRESERVACIÓN DE LAS MUESTRAS	70
ESTANDARIZACIÓN DE FILTROS	71
EVALUACIÓN DEL EFECTO PROTECTOR DE <i>S. TUBEROSUM</i>	73
<u>DISCUSIÓN:</u>	<u>78</u>

CARACTERIZACIÓN ESPECTROFOTÓMETRICA DE LOS EXTRACTOS DE <i>S. TUBEROSUM</i>	78
CARACTERIZACIÓN DEL MODELO DE ÚLCERA INDUCIDA POR INDOMETACINA.....	79
ESTANDARIZACIÓN DEL MODELO DE INDUCCIÓN DE ÚLCERA GÁSTRICA CON INDOMETACINA Y LIGADURA PILÓRICA	80
ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS BIOQUÍMICOS	81
EFFECTO DE LA PRESERVACIÓN DE MUESTRAS	81
ESTANDARIZACIÓN DE FILTROS	81
EVALUACION DEL EFECTO PROTECTOR DE <i>S. TUBEROSUM</i>	82
<u>CONCLUSIONES</u>	85
<u>RECOMENDACIONES.....</u>	85
<u>BIBLIOGRAFÍA.....</u>	87

I-Planteamiento del Problema

La úlcera gástrica es una patología frecuente a nivel mundial y latinoamericano (1)(2). En nuestro país no hay información epidemiológica específica sobre prevalencia e incidencia de úlcera gástrica, pero según datos del Instituto Salvadoreño del Seguro Social (ISSS) las enfermedades gastrointestinales generales son la tercera causa de hospitalización (3). Se ha descrito que su incidencia y prevalencia se ve afectada por ciertos factores de riesgo como: la edad, la dieta, tabaquismo, infección con *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), consumo de alcohol crónico y uso de analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINES). Éste último es de particular interés debido al uso indiscriminado de estos medicamentos a nivel mundial incluyendo nuestro país (4)(5).

La formación de las úlceras gástricas es consecuencia de un desequilibrio entre una gran variedad de factores protectores y factores lesivos (4). Sin embargo, actualmente el tratamiento está basado en el uso de medicamentos antiulcerosos, principalmente inhibidores de la bomba de protones, antagonistas H₂ y el tratamiento enfocado a la erradicación de *H. pylori* cuando existe evidencia de su infección (6).

Los principales problemas encontrados en estos tratamientos son su alto costo (1), la resistencia a antibióticos y la falla terapéutica debido a la compleja etiología de esta patología. Siendo en éstos, donde la medicina natural, alternativa y las etnoprácticas han encontrado un espacio por medio de la búsqueda de sustancias con actividad citoprotectora ó gastroprotectoras y sustancias con ambas actividades conocidas como organoprotectoras. Es conocido además que muchos extractos de plantas medicinales pueden tener actividad cicatrizante (7).

Dentro de estas alternativas una de las descritas por la población general en cuanto al tratamiento de síntomas gástricos en nuestro país y Latinoamérica es el uso de extractos de *Solanum tuberosum* (*S. tuberosum*, papa), los cuales se cree que tienen múltiples efectos terapéuticos (7). Pese a su frecuente uso hay pocos estudios que comprueben estos efectos. Por ende nos planteamos la siguiente pregunta: ¿Existe un efecto organoprotector de *S. tuberosum* en modelo de úlcera gástrica inducido de forma aguda por Indometacina en ratones?

II-Justificación y uso de resultados

A nivel mundial la enfermedad úlcera péptica causó 0.46% de muertes en el 2002, un promedio de 42 muertes por 1,000,000 de personas anualmente (8). Se calcula que en Estados Unidos se producen aproximadamente 15,000 muertes al año a consecuencia de complicaciones de esta patología (6).

La prevalencia de úlcera péptica a lo largo de la vida en Estados Unidos es de aproximadamente 12% en varones y 10% en mujeres (6). En Perú se detectan 83.09 casos de cada 1,000 endoscopías, con marcada tendencia al sexo masculino (67%), con edad promedio de 54.03 años (9).

Hay que tener en cuenta el aspecto económico que implica esta enfermedad, tanto para su tratamiento como para las complicaciones, por ejemplo en Estados Unidos las complicaciones por úlcera péptica implican un costo de \$10,000 millones anual (6). Teniendo estos datos podemos observar que nuestro país no puede cubrir el costo de esta enfermedad por falta de presupuesto, obligando a la población en general a recurrir a tratamientos que sean accesibles de acuerdo a sus ingresos (10).

En El Salvador 41% de la población general vive en áreas rurales, de este porcentaje el 53.3% está bajo la línea de la pobreza y la tasa de analfabetismo global de la población mayor de 15 años en el año 2002, fue de 18,3% (10). Incluso, con la crisis económica actual, las personas con mayores ingresos optan por evitar gastos médicos adicionales. Es por esto que las personas se ven en la necesidad de utilizar las etnoprácticas ó tratamientos alternativos más económicos, entre las cuales se encuentra el consumo de plantas medicinales como la sábila, el achiote y la suspensión de *S. tuberosum* “horchata de papa”.

La suspensión de *S. tuberosum* forma parte de la medicina natural no solo de El Salvador pero varios países latinoamericanos. En Perú la población toma el zumo de la papa en ayunas para evitar malestares estomacales (11).

Surge entonces el problema de que no existen estudios sobre el uso de la horchata de papa, ni de su posible efecto terapéutico en El Salvador. Por ello adquiere una importancia saber su efecto ya sea para ofrecer una alternativa terapéutica de bajo costo o desaconsejar su uso con bases científicas.

III- Objetivos de Investigación

Objetivo General

- Determinar el efecto organoprotector de una suspensión acuosa de *S. tuberosum* en un modelo de úlceras gástricas inducidas por Indometacina (M01AB01) en ratones.

Objetivos específicos

- Estandarizar y caracterizar el modelo de inducción de úlcera gástrica por Indometacina en ratones.
- Estandarizar el análisis digital de imágenes como método macroscópico para medición de úlceras gástricas inducidas por Indometacina y el efecto protector de *S. tuberosum*.
- Estandarizar métodos bioquímicos (lipoperoxidación, medición de pH) como medidas del daño celular y funcional de las células gástricas inducido por Indometacina.
- Caracterizar espectrofotométricamente la suspensión de *S. tuberosum* en el espectro de la luz visible.
- Determinar el efecto citoprotector de *S. tuberosum* en úlceras gástricas inducidas por Indometacina en ratones.
- Determinar el efecto gastroprotector de *S. tuberosum* en úlceras gástricas inducidas por Indometacina en ratones.
- Validar histopatológicamente los hallazgos macroscópicos y bioquímicos en cada uno de los experimentos.

IV. MARCO TEÓRICO

1. Fisiología Gástrica

El estómago realiza una variedad de funciones que incluyen el almacenamiento de alimentos, la exposición de los alimentos al ácido gástrico, además provee una barrera que brinda protección contra agresiones endógenas y exógenas. El sistema nervioso controla el proceso de coordinación de motilidad gastrointestinal, circulación, absorción, secreción endócrina y exócrina e inclusive la saciedad, siendo así sus principales blancos las células del músculo liso, las células de la mucosa secretora, aquellas de la microvasculatura y las células inmunomoduladoras e inflamatorias (12).

1.1. Secreción Gástrica y su control

El estómago es rico en células productoras de péptidos hormonales, entre ellas las células similares a las enterocromafines (ELC) que secretan histamina, la cual es el principal estimulador paracrino de la secreción de ácido. El ácido facilita la digestión de proteínas y la absorción de calcio, hierro y vitamina B12, y además ejerce una acción protectora contra microorganismos exógenos (12).

La secreción ácida gástrica está regulada mediante la interacción de señales endócrinas, paracrinas y neurocrinas por al menos tres vías mensajeras principales: (a) gastrina-histamina, (b) Colecistocinina(CCK)-somatostatina y (c) neural, mediante la Acetilcolina (Ach) y neuropéptidos. También existen comunicaciones entre los receptores H2 y M3, CCK2 y receptores sst2 de las células parietales, probablemente a través del traslape de segundos mensajeros como el Adenosina Monofosfato cíclico (cAMP) y la fosfolipasa C (12).

1.2. Secreción de moco

El moco es secretado por las células epiteliales y sus constituyentes principales son grandes glicoproteínas, mucinas y agua. Esta capa de moco es renovada constantemente y constituye una barrera entre el contenido luminal y la mucosa (12). El moco gástrico se encuentra constituido por un 95% de agua y un 5% de glicoproteína de mucina la cual proviene de los genes MUC. Las glicoproteínas de mucina, una vez secretadas, se polimerizan para crear grandes multímeros de mucina, esenciales para la formación de gel (13).

El moco está dispuesto en dos capas, una externa aguada y otra interna firmemente adherida al epitelio. La primera se encarga de la unión con agentes nocivos y nitritos y de la liberación constante de Oxido Nítrico (NO); ésta se mezcla con los alimentos y se desprende. La segunda desempeña un papel más importante para la protección de la mucosa del ácido corrosivo, pues mantiene un pH neutral, retarda la difusión retrograda de iones hidrógeno y mantiene el bicarbonato secretado por el epitelio. Ambas capas de moco tienen un engrosamiento al estímulo de Prostaglandina E2 (PGE2) (12). Se conoce que el estímulo de la PGE2 en el receptor EP1 estimula la secreción de bicarbonato. Además la secreción de bicarbonato se encuentra estimulada por el factor liberador de corticotropina, uroganilyn, el ácido luminal, melatonina y la orexina A (13).

También hay secreciones de otras sustancias como pepsinógeno, la cual al unirse con el ácido clorhídrico se activa formando pepsina. Esta se encarga de digerir los productos proteicos de la dieta, principalmente aminoácidos, potentes estimuladores de la liberación de gastrina y secreción de ácido (12).

1.3. Motilidad y vaciamiento gástrico

Las principales funciones de la motilidad gástrica son la acomodación y almacenamiento de la comida ingerida, la trituración de partículas sólidas junto con su mezcla para una máxima exposición a las enzimas digestivas y la liberación de los mismos en una forma armónica hacia el duodeno. A lo largo del tracto digestivo, los patrones de actividad motora difieren según correspondan al período de llenado o posterior a la ingesta. Y estos a su vez están controlados en gran parte por mecanismos neurohormonales (12).

1.4. Defensas gástricas

Como ya se mencionó anteriormente la mucosa gástrica se encuentra continuamente expuesta a varios factores y sustancias nocivas como: ácido clorhídrico altamente concentrado, reflujo de sales biliares, alcohol, drogas y compuestos alimentarios de diferentes temperaturas, pH y osmolaridad, al igual que sustancias con actividad detergente o citotóxica. También se ha observado que tienen un factor dañino los productos bacterianos capaces de causar reacciones inflamatorias locales y sistémicas (14)(15).

“Defensa de la mucosa” es un término utilizado para describir los factores que permiten que la mucosa permanezca intacta. La defensa de la mucosa gástrica es multifactorial, esto incluye defensas locales y mecanismos neurohormonales. La defensa se da por niveles dependiendo que tanto el daño invada la mucosa. El sistema de defensa de la mucosa se puede dividir en tres niveles principales: preepitelial, epitelial y subepitelial. De las cuales cada nivel tiene varios componentes (15).

Entre los factores locales tenemos los factores lumbinales. En el lumen del epitelio podemos observar varios componentes que colaboran a la defensa gástrica como por ejemplo: el jugo gástrico el cual reduce la colonización de bacterias en el estómago, por medio de la acción del ácido, lactoferrina e inmunoglobulinas que contiene. El moco secretado en la superficie del estómago actúa como lubricante para evitar daño físico al epitelio y también como una trampa para las bacterias, al disminuirle a estas la habilidad de penetrar en el epitelio (15).

La primera línea de defensa es una capa de moco y bicarbonato que actúa como barrera fisicoquímica e impide la difusión de iones y moléculas como la pepsina. Esta capa de moco se encuentra formada por una combinación de mucina, fosfolípidos y bicarbonato (15). La función del moco es retener el bicarbonato secretado por las células superficiales epiteliales, esto mantiene un pH casi neutro en la superficie de la mucosa gástrica y a su vez actúa como una barrera física contra la pepsina luminal y la digestión proteolítica de la superficie epitelial. La superficie de esta capa de mucosa se encuentra cubierta por un revestimiento de fosfolípidos con una gran propiedad hidrofóbica (15). Es en esta capa donde actúan los gastroprotectores que se encargan de la protección de la mucosa gástrica (16).

Sustancias ulcerogénicas como sales biliares ó aspirina, causan disrupción de la gel mucosa y la capa de fosfolípidos, lo que produce aumento de difusión de ácido en la mucosa e injuria de la misma. *H. pylori* puede liberar enzimas fosfolipasas e iones amonio, reduciendo la efectividad de la capa hidrofóbica del estómago (15).

La barrera moco-bicarbonato es la única barrera pre-epitelial entre el epitelio y el lumen, cuando esta barrera cae, otros mecanismos protectores, incluyendo neutralización intracelular de ácido gástrico, reparación epitelial, mantenimiento y distribución de flujo sanguíneo de la mucosa entran en juego (15).

El epitelio es la siguiente línea de defensa formada por una capa continua de células epiteliales superficiales. Estas células secretan moco, bicarbonato y generan prostaglandinas, proteínas de choque térmico (las cuales previenen la desnaturalización proteica y protege las células contra la injuria), factores péptidos de trébol (TFF's) y catelicidinas (15).

De estos componentes los TFF's juegan un papel importante en las vesículas intracelulares secretoras de mucina y en el ensamblaje de esta. Intervienen en la reparación de la mucosa al estimular la migración celular, inhibir apoptosis e inflamación, y aumentar la función de barrera del moco. La TFF2 juega un papel primordial manteniendo la red de mucosa y aumentando la viscosidad del gel mucoso. La secreción de bicarbonato por la mucosa gástrica es solo del 10% con respecto a la secreción ácida (15)(17)(18). El gel mucoso ayuda a evitar la pérdida de bicarbonato y crear un microambiente en la mucosa con un pH casi neutro (4).

Las catelicidinas y defensinas son importantes péptidos antimicrobianos expresados por el epitelio gastrointestinal, que juegan un rol importante en el sistema inmune innato al prevenir la colonización bacteriana en la superficie de la mucosa y acelera la sanación de úlceras (15). Una vez superada la primera línea de defensa, entra en juego la segunda línea, la cual corresponde a las células epiteliales del revestimiento gástrico, las cuales

se encuentran unidas por fuertes uniones intercelulares formando una barrera física para la difusión retrógrada de ácido y pepsina (19). Los citoprotectores que se definen como compuestos que protegen las células por debajo de la mucosa gástrica, actúan a este nivel (16).

Las células epiteliales además se renuevan aproximadamente cada 3 a 7 días (20). Según otras bibliografías varía entre 2-4 días la renovación celular (15). Cuando ocurre algún daño en la mucosa epitelial, las células remanentes en el borde del daño son capaces de migrar para ocluir la disrupción creada en el epitelio. Este mecanismo se verifica en pocos minutos, mientras que el aumento de la proliferación de células lleva un poco más de horas (21).

La superficie epitelial brinda su defensa mediante la producción de moco, los transportadores iónicos que mantienen el pH intracelular, la producción de bicarbonato y uniones estrechas intercelulares (12). Esta superficie epitelial es responsable, además de la producción de proteínas de choque térmico, las cuales se producen como consecuencia del ataque de agentes citotóxicos, estrés oxidativo o aumento de la temperatura. Estas proteínas previenen la desnaturalización proteica (4). El epitelio además produce catelicidina y beta defensinas las cuales son péptidos catiónicos que forman parte del sistema inmune innato, previenen la colonización bacteriana y aceleran la curación epitelial (4). El nivel subepitelial lo constituye un sistema microvascular en la capa submucosa, que suministra bicarbonato, micronutrientes y oxígeno, y además elimina productos tóxicos metabólicos (12).

Figura 1. Componentes involucrados en proveer defensa de la mucosa gástrica y su Reparación tomado de Principios de Medicina Interna de Harrison 17ª edición (6).

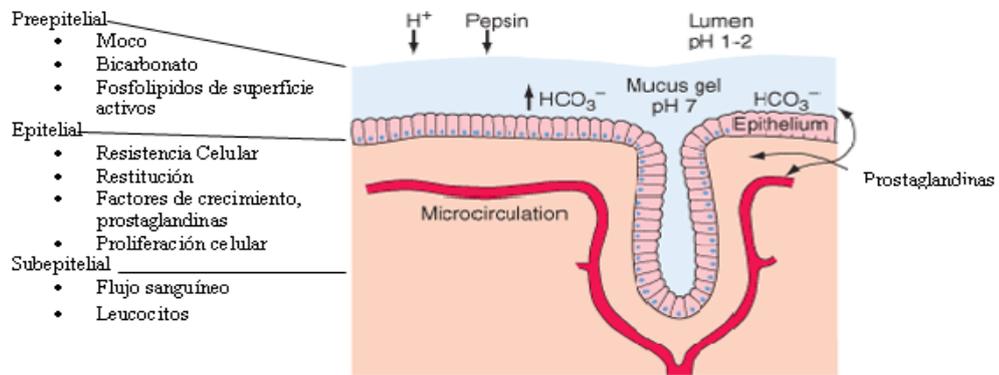
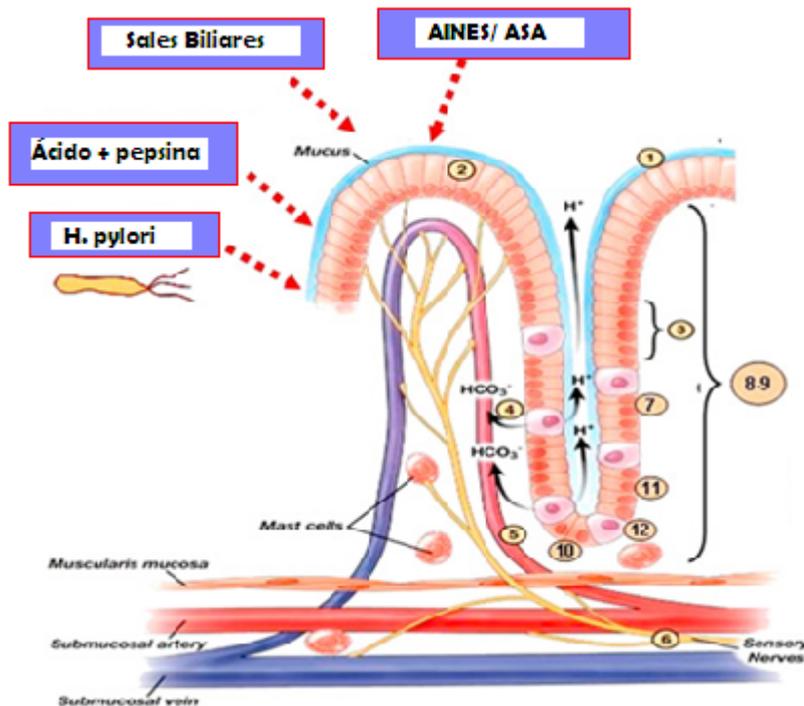


Figura 2. Representación esquemática de Factores agresivos y mecanismos de defensa de la mucosa gástrica modificado de Tulassay y Herszényi (15).

Factores Agresivos



Mecanismos defensores de mucosa

1. Barrera moco-bicarbonato
2. Barrera Epitelial
3. Renovación celular continua
4. Marea alcalina
5. Irrigación de la mucosa
6. Inervación sensorial
7. Citocinas, Factores de crecimiento
8. Prostaglandinas
9. Oxido Nítrico
10. Enzimas Proteolíticas
11. Síntesis de poliamina
12. Receptores de Proteinasa activada

El endotelio de la vasculatura gástrica es responsable de la producción de prostaciclina y óxido nítrico, fundamentales para mantener la viabilidad del epitelio gástrico. Además se oponen a la acción a sustancias como el tromboxano A2, leucotrieno C4 y endotelina, sustancias con una fuerte capacidad de vasoconstricción (22). Cuando existe un daño a la mucosa epitelial como la acidez gástrica, se produce un marcado aumento en la perfusión sanguínea de esa zona afectada permitiendo una dilución rápida de la acidez o agentes lesivos, que se difunden a través del epitelio. Esta respuesta de hiperemia se produce por mediación de los nervios aferentes gástricos y se encuentra en parte regulada por el óxido nítrico, producido por la Oxido nítrico sintasa (4).

Se conoce además, que el Sulfido de hidrógeno, posee un rol de protección similar al óxido nítrico. Se ha demostrado que protege contra el daño producido por los medicamentos tipo AINES, disminuye la expresión de factor de necrosis tumoral Alfa ($TNF\alpha$) y de la adherencia de polimorfonucleares (PNL's) en el endotelio vascular (23).

1.5. Proceso de cicatrización de úlceras gástricas

La curación de una úlcera gástrica es un proceso complejo, que involucra migración, proliferación, reepitelización, angiogénesis y degradación de la matriz extracelular que posteriormente conduce a la formación de una cicatriz (24). Este proceso es controlado por una serie de factores de crecimiento, citocinas y factores de transcripción haciendo de todo esto un proceso regulado en tiempo y en espacio (24).

Histológicamente hablando, una úlcera gástrica se compone de dos partes: un borde de tejido epitelial no necrótico, llamada a veces la zona de curación y otra parte formada por tejido de granulación que se encuentra en la base de la úlcera, compuesta

mayoritariamente por fibroblastos, macrófagos y tejido endotelial en proliferación, los cuales interactúan con la matriz extracelular (25).

Las células en la zona de curación inician un proceso de des-diferenciación, proliferación activa y producción de receptores para el factor de crecimiento epidérmico (EGF-R) (26). La ulceración causa un estímulo en las células epiteliales del borde de la úlcera para que activen genes que codifican factores de crecimiento como: Factor de crecimiento epidérmico (EGF), Factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF), Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), Factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)(26). Las células del borde sufren cambios en su citoesqueleto conformado por fibras de actina, filamentos intermedios, microtúbulos y proteínas asociadas. El factor de respuesta serológico (serum Response Factor SRF) posibilita la polimerización de la G-Actina a la F-Actina creando las fibras de estrés haciendo posible la migración de las células epiteliales del borde hacia el centro de la úlcera (27). La Re-epitelización es un paso crucial en la cura de la úlcera, ya que reestablece la barrera epitelial necesaria para prevenir daño químico o físico al tejido de granulación (26). Por otra parte las células epiteliales del tejido de granulación crean una migración en bandas hacia la superficie de la úlcera. Estas células se ramifican dando inicio a la creación de nuevas glándulas gástricas (26).

El tejido de granulación, el cual se forma en aproximadamente 48 a 72 horas después de la creación de la úlcera, se encuentra compuesto por fibras de colágena, macrófagos, células epiteliales en proliferación y primordialmente por fibroblastos encargados de la producción de matriz extracelular (26). La migración de los fibroblastos en el tejido de

granulación es crucial y está modulada por factores de crecimiento como FGF, EGF, PDGF; así como por las citocinas TNF α e IL-1 derivados de células inflamatorias (25). El tejido de granulación permite que las células sintetizando la matriz extracelular, reproduzcan una lámina propia epitelial nueva y permite la formación de vesículas, las cuales son el primer paso para la restauración de la circulación mediante la angiogénesis (26).

En la angiogénesis el VEGF juega un papel muy importante al unirse a los receptores VEGF-R1 y VEGF-R2 expresados en las células endoteliales del tejido de granulación (28). Se conoce muy bien que el estímulo que inicia la producción de VEGF es la hipoxia la cual produce la activación intracitosólica del factor de Hipoxia inducible – 1 (HIF-1) quien es el encargado de activar los genes productores del VEGF (28). El re-establecimiento de la circulación mediante la angiogénesis posibilita el transporte de oxígeno, nutrientes y células del sistema inmune acelerando el proceso de cicatrización, primordialmente en úlceras crónicas (26).

Posteriormente, como fase final del proceso de curación de úlcera, ocurre una remodelación del nuevo tejido creado, el cual es en gran parte mediado por la metaloproteinasa, una enzima dependiente de zinc, producida por las células inflamatorias (25). La metaloproteinasa remueve el tejido de granulación, dejando la nueva matriz extracelular producida y es regulada por enzimas inhibitorias de metaloproteinasas (TIMP) producidas por las células mesenquimatosas creando un equilibrio entre degradación y protección del colágeno evitando una acción descontrolada de la degradación de la matriz extracelular (25).

2. Úlceras gástricas

Úlcera Péptica se define histopatológicamente como una solución de continuidad de la superficie de la mucosa gastroduodenal debido a la exposición al ácido y la pepsina, que se extiende hasta alcanzar la *muscularis mucosae*. Desde el punto de vista clínico se define como la pérdida de la superficie de la mucosa que se puede visualizar por endoscopia o radiología, que además de tener una profundidad inequívoca y una extensión mayor de 5 mm de diámetro se acompaña de signos y síntomas que indican su presencia (29).

2.1. Epidemiología

La úlcera gástrica es una patología con una alta morbilidad a nivel mundial, se describe que el 10% de la población, específicamente hemisferio occidental sufrirá de esta patología (1). En México la úlcera péptica se presenta en aproximadamente 20% de la población mayor de 50 años (2).

Se debe de tomar en cuenta que muchos de los factores de riesgo para formación de las úlceras gástricas se encuentran presente en el país. En El Salvador el 14% de los habitantes padecen de dispepsia, un 15% de úlceras pépticas duodenales y el 1% de gastritis activa crónica. Adicionalmente en un estudio realizado en la población del área metropolitana entre 1997 y 2003 fallecieron por cáncer gástrico, 541 hombres y 432 mujeres (30).

Como se sabe el origen de las úlceras gástricas es multifactorial, entre sus principales causas se encuentra: la infección con *H. pylori*, el consumo crónico de alcohol, los

desequilibrios hormonales, el uso de fármacos tales como los AINES, entre otras más (4).

En un estudio realizado en el 2004, en el Hospital Nacional Rosales se demostró que el 61% de la población estudiada (100 pacientes) fue positiva a *H. pylori* por cultivo (31). Según las investigaciones el 11% de los adultos americanos utiliza AINES regularmente (anualmente equivale a tomar este medicamento por un mes o más) especialmente por artritis y enfermedades musculoesqueléticas crónicas. Hay un número mucho más grande que los usan intermitentemente. En Estados Unidos se estima que 41,000 hospitalizaciones y 3,300 muertes se deben al uso de AINES cada año (5).

Se ha documentado que las úlceras gastroduodenales identificadas por endoscopia son comunes en pacientes tomando AINES no selectivos con frecuencia regular, con prevalencia de 15 a 30% y una incidencia tan alta del 45%. Siendo 4 veces más frecuentes en estómago que duodeno (4).

2.2 . Fisiopatología de Úlceras Gástricas

La mucosa gástrica mantiene su integridad estructural y funcional a pesar de la exposición continua a factores agresores incluyendo 0.1 mol/L HCL y pepsina, capaces de digerir tejido. En condiciones normales, la integridad de la mucosa es mantenida por mecanismos de defensa, que incluyen: factores preepiteliales (barrera mucosa-bicarbonato-fosfolipidos), barrera epitelial (incluye además de mucus, fosfolipidos, prostaglandinas, células encargadas de remodelación y microcirculación), y la barrera endotelial que ya incluye la inervación y producción de PGs y óxido nítrico. Las prostaglandinas endógenas regulan el flujo sanguíneo de la mucosa, la proliferación

epitelial, la función inmune de la mucosa, la secreción de moco y bicarbonato y la secreción basal de ácido (29). La barrera mucosa-bicarbonato-fosfolípidos juega un papel importante manteniendo un pH neutro a nivel de la superficie epitelial. La presencia de un gel que se encuentra adherida a la mucosa permite la conservación del ión bicarbonato. Cuando esa barrera preliminar falla los siguientes mecanismos de defensa actúan, los cuales son: neutralización de ácido intracelular, reparación rápida de daño epitelial, y mantenimiento y distribución del flujo sanguíneo a nivel de la mucosa (4).

La proliferación del epitelio superficial está dirigida por el factor de crecimiento epidérmico (EGF). Los factores de crecimiento activan a su vez las células progenitoras que luego se diferencian en células epiteliales de la mucosa gástrica, reemplazando células dañadas o senescentes. Se requiere aproximadamente 3-7 días para reemplazar totalmente la superficie epitelial a diferencia de tres meses para reemplazar las células glandulares (4)(21).

La microcirculación se encarga del aporte adecuado de oxígeno, nutrientes y la remoción de sustancias tóxicas. Las células endoteliales que forman parte de los vasos sanguíneos secretan sustancias como óxido nítrico y prostaciclina que actúan inhibiendo la vasoconstricción capilar, la agregación plaquetaria y la adhesión leucocitaria. Cuando hay una injuria como exposición a HCl hay un aumento del flujo sanguíneo por medio de vasodilatación mediada por óxido nítrico (4).

El daño a la mucosa ocurre cuando los factores de riesgo sobrepasan estas defensas o cuando las defensas disminuyen. Entre las condiciones más importantes que inducen a disminuir las defensas de la mucosa está el uso de los AINES (4).

2.2.1. Fisiopatología de úlceras gástricas por AINES

Se ha documentado, que 10 minutos posteriores a una dosis única de 650mg de aspirina, el 25% de células superficiales presentan daño, y endoscópicamente es posible visualizar hemorragias subepiteliales después de 10-30 minutos posterior a la ingesta (4).

La mayoría de AINES son ácidos débiles que al entrar al ambiente ácido del estómago se tornan más liposolubles y no ionizados, lo cual facilita su transferencia hacia el interior de las células epiteliales. Posteriormente en el pH neutral de la célula epitelial, se ionizan y causan daño. Aunque los AINES producen daño local a nivel de la mucosa gástrica, el mecanismo principal de formación de úlceras gástricas por AINES y sus complicaciones se da debido a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas mediadas por la enzima Cicloxigenasa COX 1 y 2 (4).

Figura 3. Mecanismos por los cuales los AINES podrían inducir injuria en la mucosa, tomado de Principios de Medicina Interna de Harrison 17ª edición. (6)

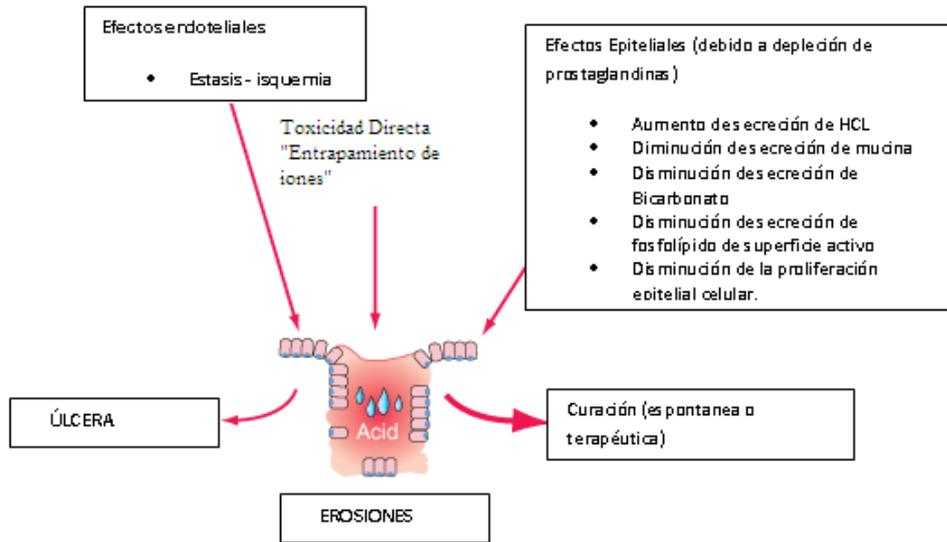
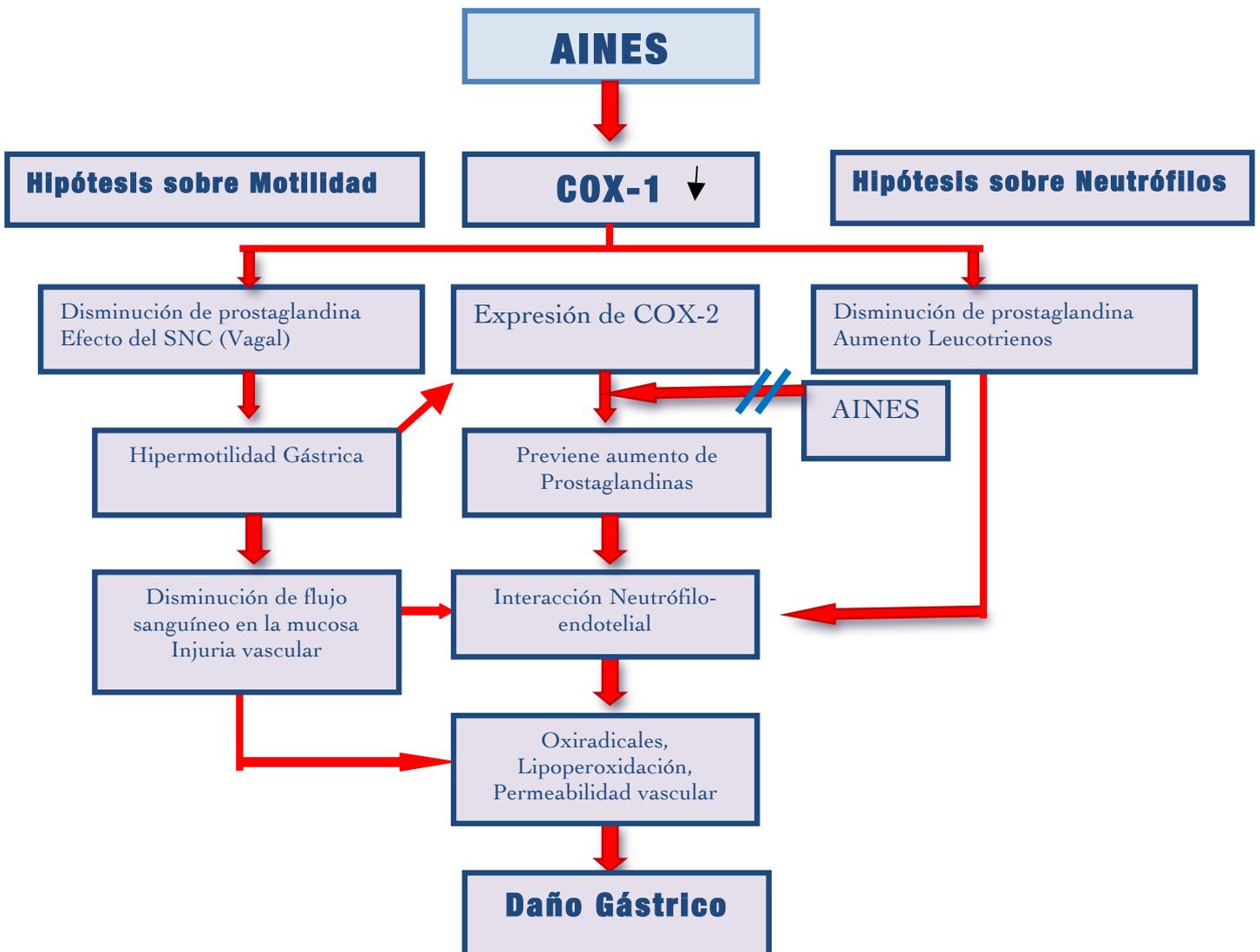


Figura 4. Actual Hipótesis de los roles de COX 1 y COX 2 en el mecanismo de patogénesis del daño inducido por AINES Modificada de Laine et al. (4)



COX 1 y COX 2 son enzimas clave en la biosíntesis de prostaglandinas. COX 1 se expresa en múltiples tejidos y es responsable de la inducción de prostaglandinas las cuales a su vez producen prostaciclina que tiene un efecto citoprotector y a la vez contribuye al buen riego sanguíneo a nivel de la mucosa, mientras que la COX 2 no está expresada en muchos tejidos, pero es inducida rápidamente en respuesta a factores de crecimiento y citocinas, actuando como un “back up” para cuando las prostaglandinas producidas por la COX 1 están deficientes y además evita que haya adherencia de neutrófilos en el endotelio (4).

Los AINES comunes como Ibuprofeno e Indometacina que no son selectivos disminuyen principalmente la producción de PGE₂ que tiene una función clave en la producción de moco y bicarbonato, dos componentes importantes para la protección gástrica. Otro mecanismo ulcerogénico de los AINES es la inducción de hipermotilidad gástrica, que se sigue con anomalías microvasculares y activación de neutrófilos. Los neutrófilos tienen efecto a nivel de la microvasculatura de la mucosa. Con la inhibición de las prostaglandinas, los leucotrienos y el TNF α aumentan y por ende facilitan la expresión de moléculas de adhesión intercelular endotelial (ICAM). Esto lleva a una adhesión mayor de neutrófilos que implica menor riego sanguíneo y mayor probabilidad de daño mediado por radicales libres y proteasas liberadas por los neutrófilos (4).

Estudios recientes demuestran que el potencial ulcerogénico de los AINES no es totalmente dependiente de los mecanismos anteriormente mencionados. Se ha descrito que estos medicamentos son capaces de producir un desacople de las enzimas cinasas de la fosforilación en la mitocondria y producir posteriormente apoptosis. Actualmente se

ha postulado el rol de los leucotrienos en la úlcera gástrica, mediante la disminución del metabolismo del ácido araquidónico, debido a la inhibición de COX por los AINES. Esto produce un mayor sustrato de ácido araquidónico para la vía de la 5-lipooxigenasa con el consecuente aumento de las concentraciones de leucotrienos (4).

2.3. Diagnóstico de Úlcera Péptica

Actualmente se basa en la historia clínica, exámenes endoscópicos y radiológicos (utilizando papilla de sustancia baritada). Este último brinda un adecuado medio diagnóstico, mediante la secuencia de imágenes por relleno y a doble contraste bajo visión fluoroscópica.

Específicamente para úlceras pépticas inducidas por AINES se toman como factores de riesgo importantes: dosis altas, uso concomitante de 2 ó más AINES, enfermedad co-mórbida, historia de úlcera sangrante previa, co-tratamiento con esteroides o anticoagulantes y, la infección concurrente por *H. pylori* (32).

2.4. Tratamiento actual de Úlceras gástricas con fármacos.

2.4.1. Fármacos Antiulcerosos

Los Fármacos antiulcerosos, son los utilizados en situaciones patológicas relacionadas con la secreción ácida gástrica (33). El tratamiento actual para úlceras gástricas se enfoca más en la inhibición de la bomba de protones, los receptores H2 y neutralización ácida. Razón por lo cual hay falla terapéutica ya que obvia los otros mecanismos para la secreción ácida gástrica.

Citoprotección es la habilidad de los agentes farmacológicos, originalmente de las prostaglandinas, para prevenir injuria a la mucosa gástrica producida por una variedad de agentes ulcerogénicos y necrotizantes (16)(4). La citoprotección se diferencia de la gastroprotección debido a que, la primera solo reduce erosiones profundas, mientras que las células de la superficie no muestran mejoría. La gastroprotección muestra protección de la mucosa gástrica, mientras que un organoprotector es un compuesto que protege un órgano de daño por erosión (16).

Cuadro 1. Clasificación de los fármacos antiulcerosos según mecanismo de acción. Tomada de “Farmacología de los antiulcerosos” (33)

Mecanismo de acción	Fármacos	
Fármacos inhibidores de la acidez gástrica	Antiácidos	Bicarbonato sódico Carbonato cálcico Hidróxido de aluminio Hidróxido de magnesio Almagato Magaldrato
Fármacos inhibidores de la secreción ácida gástrica	Antagonistas de los receptores H ₂ de la histamina	Cimetidina Ranitidina Famotidina Nizatidina Roxatidina
	Antagonistas de los receptores muscarínicos	Anticolinérgicos Pirenzipina
	Antigastrina	Proglumida
	Inhibidores de la H ⁺ K ⁺ ATPasa	Omeprazol Lansoprazol Pantoprazol Rabeprazol
	Agonistas de los receptores de la somatostatina	Análogos de la somatostatina
Fármacos con efecto antisecretor y protector de la mucosa gástrica	Prostaglandinas y análogos	Prostaglandinas PGE ₁ y PGE ₂ Misoprostol Emprostil Arbaprostil Acexamato de cinc
Fármacos con efecto protector sobre la mucosa gastroduodenal		Sucralfato Carbenoxolona Sales de bismuto coloidal

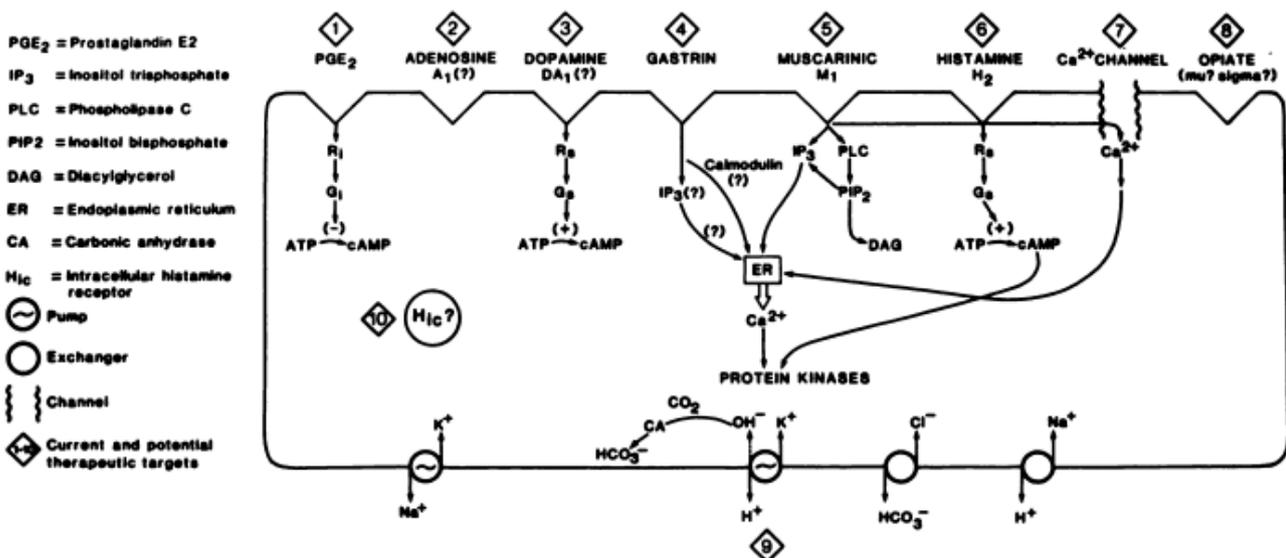
Antiácidos

Éstos tienen una acción neutralizante del ácido clorhídrico por reacción química en el estómago, con lo que reducen la acidez gástrica (pH por encima de 5) y pueden absorber pepsina y otras enzimas pancreáticas, disminuyendo la agresividad química enzimática sobre la mucosa digestiva, especialmente en las zonas en las que ésta se encuentra deteriorada. Hay dos tipos de antiácidos: sistémicos (con acción rápida pero poco duradera) y los no sistémicos: al reaccionar con el ácido clorhídrico, la parte catiónica forma una sal que no se absorbe. Tienen una acción más lenta y sostenida, por lo general sin efecto rebote (34)(33).

Inhibidores de la secreción ácida-gástrica

La fisiología de la secreción ácido gástrica es muy compleja y como se mencionó anteriormente está regulada por factores hormonales y neuronales (33).

Figura 5. Mecanismos bioquímicos de la secreción gástrica(35).



Antagonistas de Receptores H₂

Estos agentes se ligan de forma selectiva y reversible a los receptores H₂ de la histamina de la célula parietal, inhibiendo la actividad de la adenilciclase y, por consiguiente, la producción intracelular de AMP cíclico, así como la potente acción secretora de ácido de la histamina. Debido a la participación de la histamina en el efecto estimulador de la gastrina y de la acetilcolina, los antagonistas de los receptores H₂ de la histamina inhiben también parcialmente la secreción ácida estimulada por estos secretagogos (33)(34).

Inhibidores de la bomba de protones

Como se sabe la fase final de la secreción ácida es mediada por la enzima H⁺/K⁺ ATPasa (también conocida como bomba de protones), situada en la membrana secretoria de la célula parietal. La inhibición de la misma produce una potente inhibición de la secreción ácida, independientemente del estímulo. Estos fármacos antagonizan de forma irreversible la ATPasa H⁺/K⁺ o bomba de protones (34)(33).

Agonistas de los receptores de somatostatina.

Son potentes inhibidores de la secreción ácida estimulada por distintos secretagogos. Inhiben la secreción ácida estimulada por la histamina, a través de los receptores de la somatostatina acoplados a la adenilciclase, así como la estimulada por la acetilcolina y gastrina por otros mecanismos(33).

Fármacos con efecto protector y antisecretor de la mucosa gástrica.

Prostaglandinas: Las prostaglandinas de la serie E (PGE 1 y PGE 2) y distintos análogos metilados (misoprostol, enprostil, arbaprostil) provocan una inhibición dosis-dependiente de la secreción ácida gástrica basal y de la estimulada por la pentagastrina, la histamina o la comida proteica. En la célula parietal, las prostaglandinas, al igual que la somatostatina, interaccionan con los receptores inhibidores acoplados a la adenilciclase, reduciendo la difusión de protones. Las prostaglandinas aumentan las resistencias de la barrera mucosa (secreción de moco y bicarbonato)(33)(34).

Acexamato de zinc: El mecanismo por el que inhibe la secreción ácida parece estar en relación con una inhibición de la desgranulación de los mastocitos, con la consiguiente reducción de la liberación de histamina. Su efecto citoprotector sobre la mucosa gástrica está mediado por la estimulación de la secreción de moco, el incremento de la síntesis de prostaglandinas y el aumento de la capacidad de regeneración celular del epitelio de superficie (33).

Fármacos con Efecto protector sobre la mucosa gastroduodenal

Sucralfato: Se trata de un disacárido sulfatado formado por la combinación de octosulfato de sacarosa e hidróxido de aluminio. Ejerce un efecto protector sobre la mucosa gastroduodenal al unirse a las proteínas del cráter ulceroso. También forma complejos con la pepsina y estimula la secreción de moco y bicarbonato y la síntesis endógena de prostaglandinas (33).

Sales de Bismuto coloidal: (subcitrato y subsalicilato) crean un revestimiento selectivo sobre el cráter de las úlceras pépticas pero no sobre la mucosa gástrica normal. Estas

sales, una vez en el estómago, se convierten en distintos complejos insolubles que se fijan a las proteínas del cráter ulceroso, inhiben la actividad de la pepsina y estimulan la producción de moco y bicarbonato y la síntesis endógena de prostaglandinas. Más recientemente se ha reconocido también su acción bactericida sobre *H. pylori* (33).

Es innegable que el descubrimiento de la relación entre infección por *H. pylori* y enfermedades gástricas como la dispepsia, úlcera gástrica y linfoma gástrico, marcó un cambio memorable en la terapéutica de estas patologías del sistema digestivo superior. Sin embargo los regímenes de tratamientos basados en antibióticos, para la erradicación de la infección de *H. pylori*, usados durante la última década, están declinando en eficacia. Estos regímenes se encuentran además acosados por el apareamiento de cepas resistentes de ésta bacteria (36).

2.4.3. Costo de medicamentos

En los Estados Unidos el costo por paciente con úlcera gástrica oscila entre \$263 a \$866 al año. El aspecto que implica más costo es el manejo hospitalario que ocupa 62% y los medicamentos el 35% (1). En nuestro país no hay datos epidemiológicos que reflejen el costo del tratamiento de úlcera péptica, sin embargo los costos que implican no pueden ser pagados por la población de escasos recursos. Es allí donde entran las etnoprácticas para las cuales hay muchas opciones de plantas medicinales, algunas con muchos estudios que comprueban su eficacia (7) y otras en las cuales no hay muchos datos que respalden su uso.

2.5 . Tratamiento de Úlceras Gástricas con medicina Natural

Existen investigaciones referidas a productos naturales que han comprobado efecto sobre la mucosa gástrica, como por ejemplo la *Indigofera Guatemalenses* (añil)(35),

mate, sangre de grado, sábila, achiote (37), entre otras plantas. Una de las familias de plantas herbáceas más utilizadas para medicina natural es la familia de las solanáceas, de las cuales algunas utilizadas como tratamiento de ulcera péptica son: *Solanum nigrum* (conocido como hierba mora, tabaco cimarrón, entre otros nombres) el cual tiene propiedades antiulcerogénicas y de curación de úlceras (38) y *S. tuberosum* (Papa).

S. tuberosum es comunmente utilizado en nuestro país y latinoamérica. La papa tiene efectos terapéuticos tales como: El jugo alcalino de las papas neutraliza el ácido del estómago y alivia el malestar estomacal, acidez y se usa en úlceras pépticas (7)(39). En nuestro país no hay estudios que aseguren que esta sea una buena etnopráctica, tomando en cuenta el tipo de papa que se consume en El Salvador.

3. Solanum tuberosum

3.1. Generalidades

La papa (*S. tuberosum*), es originaria de América del Sur y fue llevada a Europa por marineros españoles a mediados del siglo XV. Recién en el siglo XIX se convirtió en un alimento básico, y muy pronto aumentó su popularidad en otras culturas por sus beneficios nutritivos. La papa es uno de los cuatro cultivos más importantes del mundo, junto con el trigo, maíz y el arroz. Con una producción mundial de más de 323 millones de toneladas, desde 2005 (7).

En El Salvador se comenzó a realizar investigaciones en el cultivo de papa en 1957, con las variedades Voran y Alpha. En 1968 se calculó que se cultivaban alrededor de 420

hectáreas, en Zapotitan, departamento de La Libertad, Las Pilas, Cítala, Departamento de Chalatenango, Texistepeque y Candelaria de la frontera del departamento de Santa Ana, con un rendimiento promedio de 9.9 tm/ha. En el 2002 según encuestas realizadas por CENTA el promedio de rendimiento fue de 19.4 tm/ha (40). Generalmente se toma alrededor de 120 días entre la siembra y la cosecha de papa, siendo los períodos comunes de siembra entre octubre y enero (41).

La papa tiene una pequeña cantidad de atropina, al igual que el tomate, la berenjena, y otros miembros de la familia de las solanáceas. La atropina es letal en cantidades grandes, pero en pequeñas dosis tiene un efecto antiespasmódico, que alivia el dolor y retortijones (7). La papa se puede aplicar externamente para aliviar dolores musculares y problemas de la piel. Existen más de 100 variedades de papas y se diferencian en el tamaño, forma y color. A pesar de las diferencias todas las papas ofrecen las mismas ventajas para la salud (7).

En CENTA se registra que las variedades de papa más comunes en El Salvador son: Tollocan (la más producida a nivel nacional) y la Soloma (la más consumida en el país, pero proviene en su mayoría de Guatemala)(41). A continuación se muestra el contenido nutricional de la papa Soloma cruda con cáscara.

Cuadro 2. Tomado de las “Tablas de composición de alimentos en C.A” y “Tabla de composición de Alimentos para América Latina” de la INCAP (42)(43)

	Papa cruda con cascara
Energía	79 Kcal
Proteína	2.8 g
Grasa	0.2 g
Fibra dietética	1.63 g
Ac. Grasos Saturados	0.03 g
Ac. Grasos monosaturados	0.0 g
Ac. Grasos polisaturados	0.04 g
Colesterol	0.0 g
Magnesio	23 mg
Sodio	10 mg
Potasio	413 mg
Zinc	0.35 mg
Vitamina B6	0.24 mg
Ac. Fólico	17.3 mg
Vitamina B12	0.0 mg
Agua	77.90%
Cenizas	0.9
Carbohidratos totales	18.2 g
Calcio	10 mg
Fosforo	50 mg
Hierro	1 mg
Tiamina	0.11 mg
riboflavina	0.04 mg
Niacina	1.50 mg
Vitamina c	20 mg
Fibra	0.6 g

Los Carbohidratos de la papa incluyen almidón, celulosa, glucosa, sacarosa y pectinas. De los alcaloides que juegan un papel importante están la solanina y chaconina; pero se encuentran en dosis bajas.

La medicina natural refiere que las papas con cáscara delgada pueden ser almacenadas hasta una semana. Las papas maduras pueden durar 2 meses almacenadas, siempre y cuando sea un lugar seco y fresco. Antes de cocinarlas se recomienda quitar brotes o

manchas verdes ya que esto indica la presencia de solanina; una sustancia toxica al ser ingerida en grandes cantidades (7).

3.2 . Propiedades y Efectos Terapéuticos

Tradicionalmente, muchas plantas han sido utilizadas en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales. Se ha determinado que varias especies vegetales y sus compuestos químicos producen efectos benéficos sobre el tracto gastrointestinal. Así, terpenoides, flavonoides y alcaloides son ejemplos de sustancias con demostrada actividad protectora sobre la mucosagástrica. Características que también serían propiedad del zumo de papa (11).

La papa aporta carotenoides, siendo los más abundantes la violaxantina, anteraxantina y luteína. Se encuentran en menor cantidad neoxantina, beta-criptoxantina, zeaxantina y beta-carotenos (7). Los efectos terapéuticos descritos son: el jugo alcalino de las papas neutraliza el ácido del estómago y alivia el malestar estomacal, acidez y se usa en úlceras pépticas. Las papas tibias alivian dolor muscular y de articulaciones, y mejoran la circulación. Las crudas reducen el picor e inflamación de la piel (7).

3.3. Formas de Uso para Tratamiento de Ulcera Gástrica

Se describe que beber agua de papa reduce el ácido en el sistema gastrointestinal. Para prepararla se hace de la siguiente manera: se lava una papa grande, se corta en trozos, se pone en una taza con agua y sal y se deja reposar por una noche. Luego se cuele y se bebe el agua durante las mañanas con el estómago vacío. Se aconseja repetir durante varias semanas. Otra forma de prepararla es utilizando un exprimidor; se saca el jugo de

1-2 papas grandes (con cáscara) y se bebe de 3-4 cdas. del jugo media hora antes de las comidas (7).

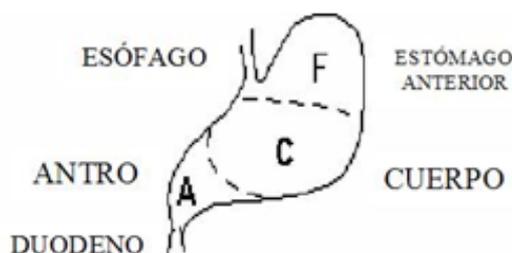
Se ha comprobado su efecto citoprotector en un modelo de inducción con etanol, pero aun no hemos encontrado estudios que evalúen el efecto organoprotector de *S. tuberosum*, variedad Soloma, en modelo de inducción por Indometacina (11).

4. Métodos de inducción y medición de úlceras en ratones

4.1. Anatomía del Ratón

Debido a que nuestro modelo de experimentación es con ratones albinos suizos, debemos conocer un poco sobre la anatomía del sistema digestivo de esta especie; la cual podemos constatar no varía mucho de la anatomía humana. El total del tracto gastrointestinal del ratón es de aproximadamente 44 cm constando de 4 centímetros para el esófago; 35 cm para el Duodeno, Yeyuno e Íleon y 14 cm para el colon y recto. A grosso modo el estómago del ratón albino suizo puede dividirse en dos grandes regiones: región del cardias y región pilórica (11).

Figura 6. Regiones del estómago del ratón (vista ventral). Tomado de “Anatomía del ratón del laboratorio” (44)



4.2. Métodos de inducción de úlceras gástricas

La utilización de modelos animales de úlceras gástricas nos ha ayudado para comprender la complejidad y causa multifactorial de úlceras gastroduodenales. Hay varios modelos que han sido desarrollados. La mayoría están enfocados para hacer daño agudo. Se puede utilizar varias sustancias necrotizantes como etanol, ácidos o bases fuertes, AINES, isquemia a través de clampar las arterias gástricas y posterior reperusión; ó por estímulos estresantes (45). El uso de modelos agudos de daño gástrico se ha visto en la investigación de sustancias gastrolesivas y gastroprotectoras, y además para estudiar los mecanismos responsables para la inducción de úlceras gástricas (45).

Cuando se quiere analizar el daño gástrico por sustancias necrotizantes el efecto dañino debe ser evaluado a nivel local en la mucosa gástrica. Razón por lo cual hay que administrar la sustancia utilizando una cánula.

Los AINES más utilizados para inducir úlceras gástricas son Aspirina y la Indometacina. Los dos causan daño local, sin embargo la Indometacina, y los otros AINES, pueden provocar úlceras gástricas por mecanismos sistémicos por medio de la inhibición de la síntesis de las prostaglandinas, que perjudiquen la microcirculación a nivel de la mucosa gástrica y promueven la adhesión de neutrófilos a las células endoteliales (45).

La Indometacina fue de los primeros AINES utilizados para la inducción de úlceras gástricas por su mayor potencial ulcerogénico. El modelo de Indometacina utiliza una dosis de 20 a 40 mg/kg de peso en ratones produciendo múltiples úlceras gástricas luego

de 6 horas aproximadamente (46). En otro estudio con ratas se utiliza una dosis de Indometacina de 6 $\mu\text{mol/kg}$ administrada por cánula gástrica por 14 días y luego sigue por siete días más junto con un medicamento antiulceroso para ver su efecto cicatrizante (47). El método de Rainsford involucra la administración subcutánea de 30mg/kg de Indometacina junto con una administración intraperitoneal de betanecol a 5mg/kg. La administración de la Indometacina fue después de un ayuno de 24 horas (48).

El modelo que utiliza Aspirina lo suspende en carboximetilcelulosa al 1% y 0.16N HCL, obteniendo una concentración final de 12mg/ml. Se administra a una dosis de 120mg/kg en un volumen que no excede los 10ml/kg (45). Hay otro modelo con Aspirina que utilice una dosis de 500mg/kg (49). Los métodos mencionados anteriormente utilizan cánula oral para la administración de los medicamentos.

En un modelo que buscó el efecto protector de la glucosamina en úlceras gástricas, utilizó el Ibuprofeno a dosis de 50mg/kg vía oral cada 12 horas previo un ayuno de 24 horas (50). En otro estudio que utilizó *terminalia arjuna*, indujeron úlceras con una dosis oral de 80mg/kg diluido en agua después de un ayuno de 48 horas (51).

Según ciertos estudios la inducción de úlceras con Indometacina se realiza a través de la administración de dosis entre 20-40 mg/kg dadas por cánula. Los animales de experimento deben haber sido previamente sometidos a un periodo de ayuno de 24 horas de sólido y 12 horas de líquido y estando en jaulas anticoprofágicas para evitar sesgo en los resultados (11)(52).

4.3 Métodos de Medición en la inducción de úlceras gástricas en ratones

4.3.1 Medición Macroscópica

Existen métodos macroscópicos para la medición de úlceras gástricas; entre ellos tenemos un método cuantitativo no sistemático, que consiste en la obtención del índice de úlcera. En este método se multiplica el ancho por el largo de la úlcera gástrica para obtener su superficie. El principal problema con este método es que las úlceras creadas por Indometacina ó alcohol no tienden a ser homogéneas y los bordes son irregulares limitando el uso de este método (53). Una mejora en este método es la utilización de láminas cuadrículadas facilitando así la cuantificación de superficie de la úlcera mediante un microscopio o un estereoscopio. Este método, sin embargo, se ve limitado por la necesidad de un operador capacitado y con experiencia en la medición de úlceras además de las limitantes de tener acceso a un estereoscopio en un laboratorio de bajo presupuesto. Actualmente existen métodos de manejo de imágenes por medio de software de computadoras disponibles en internet. Un ejemplo de éstos software es el programa Scion Image Software (accesible en http://www.scioncorp.com/pages/scion_image_windows.htm). Se basa en la medición de la intensidad y la densidad del área hemorrágica de una imagen escaneada del estómago de ratones con úlceras inducidas por etanol e Indometacina. El software asigna una cantidad de pixeles por distancia lineal (PXL x mm) para determinar el tamaño del área afectada. La ventaja obvia de éste método es su bajo costo y alta sensibilidad (53).

Figura 7. Pasos para el cálculo del área lesionada, con el programa Scion Image Software (accesible http://www.scioncorp.com/pages/scion_image_windows.htm).



4.3.2 Métodos Microscópicos (Gold Standard)

Este método se basa en la preparación de cortes histológicos y su posterior evaluación por un especialista o patólogo quien da su opinión sobre el daño encontrado. La enorme desventaja de este método, es que puede dar paso a la subjetividad del observador especialista y además se requiere de una persona capacitada y con experiencia. Sin embargo, este método puede ser mejorado mediante una escala que otorga un puntaje a cada una de las características encontradas en las úlceras gástricas disminuyendo la subjetividad del evaluador. Un Ejemplo de esta escala diseñada para ratas es la creada por Morini G. y Grandi D (45).

Cuadro 3. Escala patológica diseñada por Morini G. y Grandi D. (45)

Grado 0	Mucosa Normal
Grado I	Vasocongestión no más profundo que “pit region”- capilares están dilatadas e ingurgitadas y células rojas y blancas están visibles adentro.
Grado II	Vasocongestión y edema intersticial, los dos delimitados a la región subepitelial, los espacios intersticiales están expandidos, sin presencia de células.
Grado III	Erosiones superficiales con discontinuidad del epitelio superficial.
Grado IV	Necrosis focal que se extiende hacia las células principales o hasta la muscularis mucosae. Estas áreas tienen presencia de material amorfo, macrófagos y neutrófilos.

4.3.3. Métodos Bioquímicos

Los posibles marcadores bioquímicos susceptibles a medición:

- a) Prostaglandina E2: Producida por COX-1 y COX-2, tiene sus diversos efectos al unirse a 4 diferentes subtipos de receptores de prostaglandinas endógenas (EP1-EP4) a través de varias vías intracelulares de transducción. Por ejemplo: receptores EP1 se unen con una proteína determinada (Gq), lo cual conduce a un incremento de calcio intracelular. EP2 y EP4 se unen con proteínas Gs y producen incremento en el adenosin monofosfato ciclico (cAMP); y los receptores EP3, tienen múltiples variantes que se unen a proteínas Gi, Gs o Gq, dependiendo de la isoforma, resultando en una disminución o aumento de cAMP o aumento de calcio. A través de ciertos estudios se ha comprobado que la prostaglandina E2 promueve la mejoría de lesiones gastrointestinales causadas por Indometacina al estimular angiogénesis por regulación de la expresión de factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) a través de la activación de receptores EP4. Debido a que se ha comprobado por varios estudios que este factor de crecimiento estimula la proliferación celular, es posible que la PGE2

endógena, al estimular el VEGF no solo aumenta la angiogénesis sino también estimule la proliferación/migración de células epiteliales, acelerando así la cura de lesiones gastrointestinales (54).

b) Caspasa: Esta enzima es indicador de apoptosis celular. Según estudios, en úlceras inducidas por Indometacina hay un aumento en la expresión de esta enzima (55). Es una proteasa encargada de inducir la vía de la apoptosis, que una vez activada causa la destrucción de proteínas nucleares y citoesqueléticas. En estudios de úlceras por estrés se identificó un aumento en la apoptosis a través de la medición de la caspasa-3. Se postula que esta vía se activa después de la liberación de la Citocromo C de la mitocondria. En el mismo estudio se demostró el efecto que tiene el EGF y PGE2 en la disminución de la expresión de genes encargadas de la expresión de la caspasa-3. En un principio postularon que el efecto de EGF y PGE2 era a nivel de la proliferación celular pero ahora se sabe que tiene un efecto gastroprotector, inhibiendo la apoptosis a nivel del epitelio gástrico (55).

c) PCNA: Antígeno nuclear de proliferación celular, es una proteína auxiliar para la DNA polimerasa δ , una enzima necesaria para síntesis de DNA y proliferación celular (55).

d) Metaloproteinasa: Son una familia de enzimas que tienen una función principal de degradar componentes de la matriz extracelular. Se ha descrito en modelos de úlceras gástricas provocadas por ácido-acético, hay una mayor expresión de estas enzimas a nivel de la base ulcerosa que a nivel de la mucosa normal. Las

que tienen mayor relevancia son la colagenasa y la gelatinasa B. Estas enzimas tienen una mayor actividad durante las primeras 24 horas posterior a la producción de la úlcera y se ha postulado que su actividad principal es la degradación de matriz extracelular necrótica. Su activación se da a través de las citoquinas proinflamatorias. Después de las primeras 24 horas disminuye la actividad de las metaloproteinasas para dar paso a la fase de curación (56) .

- e) Medición del estrés oxidativo: En el pensamiento médico actual está ampliamente establecido que en momentos de daño tisular en organismos aerobios, se generan especies reactivas de oxígeno, los cuales pueden provenir de una deficiencia en los mecanismos de eliminación de estas sustancias ó un aumento en su producción. Una acumulación de especies reactivas de oxígeno puede posteriormente causar peroxidación lipídica, daño de la membrana celular, ruptura del ADN y degradación proteica (57). La medición del estrés oxidativo puede ser de dos formas: Directa: como, su nombre lo indica, es la medición de las sustancias oxidantes en el cuerpo. Este método posee la enorme desventaja que las especies reactivas de oxígeno en el cuerpo poseen una vida media muy corta. El radical hidroxilo posee una vida media de 10^{-10} segundos (58). La espectrometría de la resonancia de la rotación (espín) de electrones es la única técnica analítica que mide directamente los radicales libres de oxígeno, pero su aplicación en el ser humano no es factible aún, además se necesita de equipos que son excesivamente caros (58). Método Indirecto: consiste en la determinación de productos terminales de la acción oxidante. Estos productos derivan de la acción de las especies reactivas de oxígeno (ERO) en las proteínas, ADN y lípidos. Los EROs inducen en la proteínas la acumulación de grupos

carbonilos, que pueden ser evaluados después de la condensación con 2-4 dinitrofenilhidrazina (2-4 DNFH). Este método es muy prolongado e involucran una gran cantidad de solventes (58). Existen aproximadamente 12 productos de degradación del DNA por estrés oxidativo de los cuales dos han sido utilizados como marcadores: entre ellos tenemos el Timidin glicol (TG) y 8-OH 2-deoxiguanosina. Para ambas sustancias existen kits de ensayo de ELISA para medir su concentración en tejidos; Sin embargo, la medición de la lipoperoxidación constituye el valor estándar cuando se trata de la medición de la acción de los radicales libres de oxígeno en el tejido y existen varias formas de medirlo. El más conocido se basa en la reacción del ácido tiobarbitúrico, un producto de la degradación de la oxidación de los fosfolípidos, con el malondialdehído (MDA), formando así un color susceptible a ser medido por métodos fluorométricos o cromatográficos. También se pueden medir otros aldehídos procedentes también de la lipoperoxidación, como el 4 hidroxinonenal o la detección de hidrocarburos volátiles en el aire expirado como el etano y el pentano; pero la mayor desventaja de estos últimos es que requieren equipo especializado (58).

Hipótesis de Trabajo

La suspensión de *S. tuberosum* posee una acción organoprotector en un modelo de inducción de úlceras gástricas por Indometacina en ratones albinos suizos.

Hipótesis Estadísticas

H1

La utilización de suspensión de *S. tuberosum*, precipitado, disminuye la formación de úlceras gástricas en los ratones del estudio.

H0

La utilización del suspensión de *S. tuberosum*, precipitado, no influyen en la formación de úlceras gástricas, en los ratones del estudio.

H1

Existe una disminución en los niveles de lipoperoxidación en los grupos de ratones tratados con suspensión de *S. tuberosum* en relación con los grupos controles positivos.

H0

No existe diferencias en los niveles de lipoperoxidación en los grupos de ratones tratados con suspensión de *S. tuberosum* y los grupos controles positivos.

H1

Existe un aumento de los niveles de pH del contenido gástrico en los grupos de ratones tratados con la suspensión de *S. tuberosum* en relación con los grupos controles positivos.

H0

No existen alteración entre los niveles de pH de contenido gástrico en los grupos de ratones tratados con la suspensión de *S. tuberosum* y los grupos controles positivos.

H1

Existen diferencias macroscópicas en la mucosa gástrica en los grupos de ratones tratados con la suspensión de *S. tuberosum* y los grupos controles positivos.

H0

No existen diferencias macroscópicas en la mucosa gástrica en los grupos de ratones tratados con la suspensión de *S. tuberosum* y los grupos controles positivos.

Delimitación del tema

El presente estudio se enfocó en el efecto organoprotector de *Solanum tuberosum* a nivel de la mucosa gástrica. Se hizo con fines de encontrar un tratamiento comprobado científicamente y accesible para la población salvadoreña en general, que no tienen la capacidad económica de utilizar los antiulcerosos comunes.

El modelo de inducción de úlcera gástrica que se implementó fue el de Indometacina. La evaluación del daño a nivel de la mucosa gástrica se realizó a través del análisis macroscópico por medición del área con medios ópticos; medición bioquímica de lipoperoxidación, pH; y por histopatología. No se evaluó el efecto antimicrobiano contra *H. pylori*.

Las pruebas estadísticas que se emplearon se usaron con el afán de demostrar la relación que tiene el daño a nivel de la mucosa con el uso del zumo de papa precipitado. Con ello se pretende respaldar científicamente o desaconsejar una etnopráctica que se utiliza a nivel de El Salvador.

Para este estudio se tomó en cuenta la limitación de la variabilidad genética de la línea de ratones que es heterocigoto y de la cual no conocemos todas sus características.

V. METODOLOGÍA

Tipo de Estudio: Experimental, controlado.

Población:

Se utilizaron ratones heterocigotos derivados de la línea de ratones albinos suizos mayores de 6 semanas, del sexo femenino, criados en las instalaciones del laboratorio de la Universidad Dr. José Matías Delgado en un ambiente de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, con una temperatura de 27°C.

La selección de ratones de un mismo sexo se realizó para disminuir el efecto de la variabilidad genética, la cual ha sido comprobada en estudios anteriores (35). El sexo femenino fue seleccionado debido a que los ratones de sexo masculino demuestran una mayor agresividad lo cual podía causar exclusión de sujetos en estudio por lesiones causadas entre ellos principalmete durante las 24 horas de ayuno previas al experimento.

Criterios de Inclusión:

- Ratones albinos Suizos de más de 6 semanas
- Ratones que pesan 28-30gr
- Ratones con 24 horas de ayuno
- Ratones de sexo femenino

Criterios de Exclusión:

- Ratones embarazadas
- Ratones que tengan una malformación congénita evidente
- Ratones que presenten lesiones físicas producto del ayuno de 24 horas

- Ratonos que mueran durante los procedimientos del experimento

Dieta

Los ratones se alimentaron con concentrado de la marca K-NINO, Tecnutral. Las características nutricionales se especifican en el cuadro 4 donde además se presentan las diferencias entre esta dieta y la dieta AIN-93G, una de las más utilizadas en experimentos de laboratorio debido a su aporte nutricional ideal para roedores de experimentación en crecimiento (59).

Cuadro 4. Diferencia entre los componentes de la dieta AIN-93G y el concentrado marca K-NINO (59).

Componentes	Dietas	
	Dieta KNINO	Dieta AIN-93G
Proteína mínima	18.0%	18.7%
Grasa mínima	7.0%	7.0%
Fibra máxima	6.0%	5.0%

Preparación de Extractos

Los tubérculos de *S. tuberosum* de la variedad Soloma se obtuvieron de un mercado local de San Salvador. Cuatro unidades de 41 gr. Cada una, se lavaron y cada una se cortó transversalmente. Posteriormente, se introdujeron en el extractor de jugo de la marca “Champion Juicer”. La suspensión resultante se filtró en gasa; luego, se colocó en una probeta por espacio de 60 minutos para la separación de dos fracciones por decantación; obteniendo así el sedimento y el sobrenadante (11). Para este estudio se utilizó solamente el sedimento, al cual nos referimos a lo largo del estudio como “extracto o suspensión de *S. tuberosum* o papa”.

Diseño Experimental

Estandarización del modelo de úlcera

Para la estandarización del modelo de inducción de úlceras gástricas por Indometacina se tomó una n de 40 ratones divididos en 4 grupos de 10 ratones cada uno (ver cuadro 5). Dos de inducción de úlceras: uno con dosis de Indometacina de 40 mg/kg (grupo AINES1) y el otro con dosis de 68 mg/kg (grupo AINES2). Dos grupos controles: el grupo control de procedimientos (grupo SHAM) y otro al que se administró solamente solución de bicarbonato de sodio al 4% (Bicarbonato).

Cuadro 5. Grupos de estandarización del modelo de úlcera inducida por Indometacina

Nombre del grupo	Descripción	Intervención
Grupo AINES1	Grupo de inducción de úlceras gástricas con Indometacina.	- Ayuno de sólidos - Indometacina 40 mg/kg disuelta en solución de bicarbonato de sodio al 4% - Ligadura pilórica
Grupo AINES2	Grupo de inducción de úlceras gástricas con Indometacina.	- Ayuno - Indometacina 68 mg/kg disuelta en solución de bicarbonato de sodio al 4% - Ligadura pilórica
Grupo SHAM	Grupo control de efecto de procedimientos ligadura pilórica	- Ayuno - Ligadura
Grupo Bicarbonato	Grupo control de disolvente	- Ayuno - Bicarbonato de sodio al 4% - Ligadura

Caracterización del modelo de úlceras inducidas por Indometacina

Se utilizó una n= 13, ratones sexo femenino, bajo las mismas condiciones previas de la estandarización. Al azar, se seleccionaron cada dos horas (2, 4, 6 horas) grupos con n=3.

A los que se les administró Indometacina a 68 mg/kg disuelta en bicarbonato de sodio al 4% con ayuda de una cánula. Transcurrido el tiempo correspondiente, se sacrificaron. Se realizó la extracción del estómago para su posterior análisis. Se utilizó como punto de inicio o punto cero a un grupo de ratones al cual no se le administró Indometacina.

Determinación del Efecto protector de la suspensión de *S. tuberosum* en úlceras gástricas inducidas por Indometacina

Durante el experimento se utilizó una n= 30, divididos en 3 grupos, los cuales se utilizaron para verificar el efecto protector en la mucosa gástrica. La dosis de la suspensión de *S. tuberosum* fue de 20 ml/kg teniendo en cuenta un estudio de Sandoval Vegas M. *et al.* que comprueba la función antioxidante y de protección gástrica con *S. tuberosum* (11).

Cuadro 6. Grupos Experimentales

Nombre del Grupo	Descripción	Intervención
AINES n = 10	Grupo control positivo de inducción de úlceras por Indometacina	- Ayuno por 24 horas - Indometacina 68 mg/kg disuelta en solución Bicarbonato de sodio 4% (0.2 ml) - Ligadura pilórica
PAPA n = 10	Grupo experimental del Efecto organoprotector de suspensión de <i>S. tuberosum</i>	- Se administró suspensión de <i>S. tuberosum</i> equivalente a 20 ml/kg una hora antes de la inducción de úlcera gástrica con Indometacina. -Indometacina 68 mg/kg disuelta en solución Bicarbonato de sodio 4% - Ligadura pilórica
PPI n = 10	Grupo control positivo de efecto portector en la mucosa gastrica	- Se administrarán 30 mg/kg de Omeprazol (A02BC01) disuelto en solución de

	Indometacina	Bicarbonato de sodio al 4 % una hora antes de la inducción de úlcera gástrica con Indometacina. - Indometacina 68 mg/kg disuelta en solución Bicarbonato de sodio 4% - Ligadura pilórica,
--	--------------	---

Operacionalización de Variables

Cuadro 8. Operacionalización de Variables

Variable	Definición	Medición	Indicadores
Edad	Número de semanas transcurridas desde el nacimiento de cada ratón hasta la fecha de estimación, siendo una semana 7 días transcurridos.	Semanas	Número de semanas
Dosis	Cantidad de fármaco u otras sustancias que se administra en una vez.	Microlitros, μl	μl de extracto administrados μl de Omeprazol μl de Indometacina
Espectro de absorción de luz visible	Todos los posibles niveles de energía que la luz puede tomar y que son percibidos por un espectrofotómetro.	Valores de absorbancia obtenidos del espectro de luz visible. 400-700 nm	Valor de DO* reportado por el espectrofotómetro entre los 400 y 700 nm
Área Total de las lesiones filtro 125	Sumatoria de la extensión o superficie de todas las lesiones producidas analizadas con Scion Image	Milímetros cuadrados	Cantidad total de milímetros cuadrados
Área Total de las lesiones filtro 145	Sumatoria de la extensión o superficie de todas las lesiones producidas analizadas con Scion Image	Milímetros cuadrados	Cantidad total de milímetros cuadrados
Área media de las lesiones filtro 125	Valor que se obtiene dividiendo la suma de las áreas de lesión entre el número de lesiones.	Milímetros cuadrados	Media Aritmética del área de lesión
Área media de las lesiones filtro 145	Valor que se obtiene dividiendo la suma de las áreas de lesión	Milímetros cuadrados	Media Aritmética del área de lesión

	entre el número de lesiones.		
Desviación estándar de las lesiones filtro 125	Valor que se obtiene con la raíz cuadrada de la varianza.	Milímetros cuadrados	Media de distancias que tienen los datos respecto a su media aritmética.
Desviación estándar de las lesiones filtro 145	Valor que se obtiene con la raíz cuadrada de la varianza.	Milímetros cuadrados	Media de distancias que tienen los datos respecto a su media aritmética.
Índice de las lesiones filtro 145	Valor que se obtiene dividiendo el área total de lesiones entre el área media de lesiones.	Sin unidades	Valor numérico
Índice de las lesiones filtro 125	Valor que se obtiene dividiendo el área total de lesiones entre el área media de lesiones.	Sin unidades	Valor numérico
Máximo	Valor máximo obtenido en las pruebas	Milímetros cuadrados	Valor máximo de milímetros cuadrados
Mínimo	Valor mínimo obtenido de las pruebas	Milímetros cuadrados	Valor mínimo de milímetros cuadrados
Intensidad de la lesión	Grados de la lesión histopatológica utilizando Escala patológica de Morini y Grandi	Grados(0-IV)	0 – mucosa normal I – Vasocongestión II- Vasocongestión y edema intersticial. III - Erosiones superficiales con discontinuidad del epitelio superficial. IV- Necrosis focal que se extiende hacia las células principales o hasta la muscularis mucosae.
Concentración de <i>S.tuberosum</i> administrada a ratones	Volumen administrado de <i>S. tuberosum</i> por cánula a animales en experimentación	mililitros	Volumen de suspensión del precipitado administrado
Concentración de sustancia control de	Cantidad administrada de	mililitros	Volumen de sustancia

organoprotección	Omeprazol (30 mg/kg) por cánula a animales en experimentación		
Porcentaje de protección	100% - ((variable grupo experimental/ grupo 1) x 100)	Porcentaje (%)	Diferencia de porcentajes entre el grupo de control positivo de lesión y el grupo experimental.
MDA	Medición de concentración de Malondialdehído (MDA) en tejido gástrico, por medio de kit TBARS a través de espectrofotómetro.	nm/mL de MDA	Valor calculado en nm/mL de MDA utilizando una curva patrón. Mayores valores de MDA reflejan mayor estrés oxidativo en el tejido .
pH	Medición de valores de pH por tiras y papel de pH, para sacar promedio del valor.	Sin unidades	Valor numérico que refleja las variaciones de pH producto de las sustancias administradas Valor normal de pH Las variaciones de pH permitirán inferir un posible efecto neutralizante o sobre la función de las células gástricas
Efecto organoprotector de precipitado de <i>S. tuberosum</i> a dosis de 20 ml/kg	Disminución de la injuria gástrica en animales de experimentación con terapia de <i>S. tuberosum</i> y alteraciones macroscópicas, microscópicas y bioquímicas.	La diferencia entre las variables analizadas no sean estadísticamente significativas del grupo control positivo	Evidencia de efecto gastroprotector y citoprotector

* DO= Densidad óptica

Cuadro 9. Definiciones operacionales.

	Definición
Antiulceroso	Medicamento que protege la mucosa gástrica de erosión, por medio del control de la secreción de iones hidrógeno.
Organoprotector	Compuesto que protege un órgano de daño tanto por mecanismos citoprotectores como gastroprotectores.
Gastroprotector	Compuesto que protege la mucosa estomacal.
Citoprotector	Compuesto que proteja las células por debajo del epitelio de la mucosa gástrica.

Caracterización del extracto

Al extracto se le realizó un espectro de absorción, midiendo su absorbancia en el rango de la luz visible de 400 a 700nm en intervalos de 10nm utilizando un espectrofotómetro.

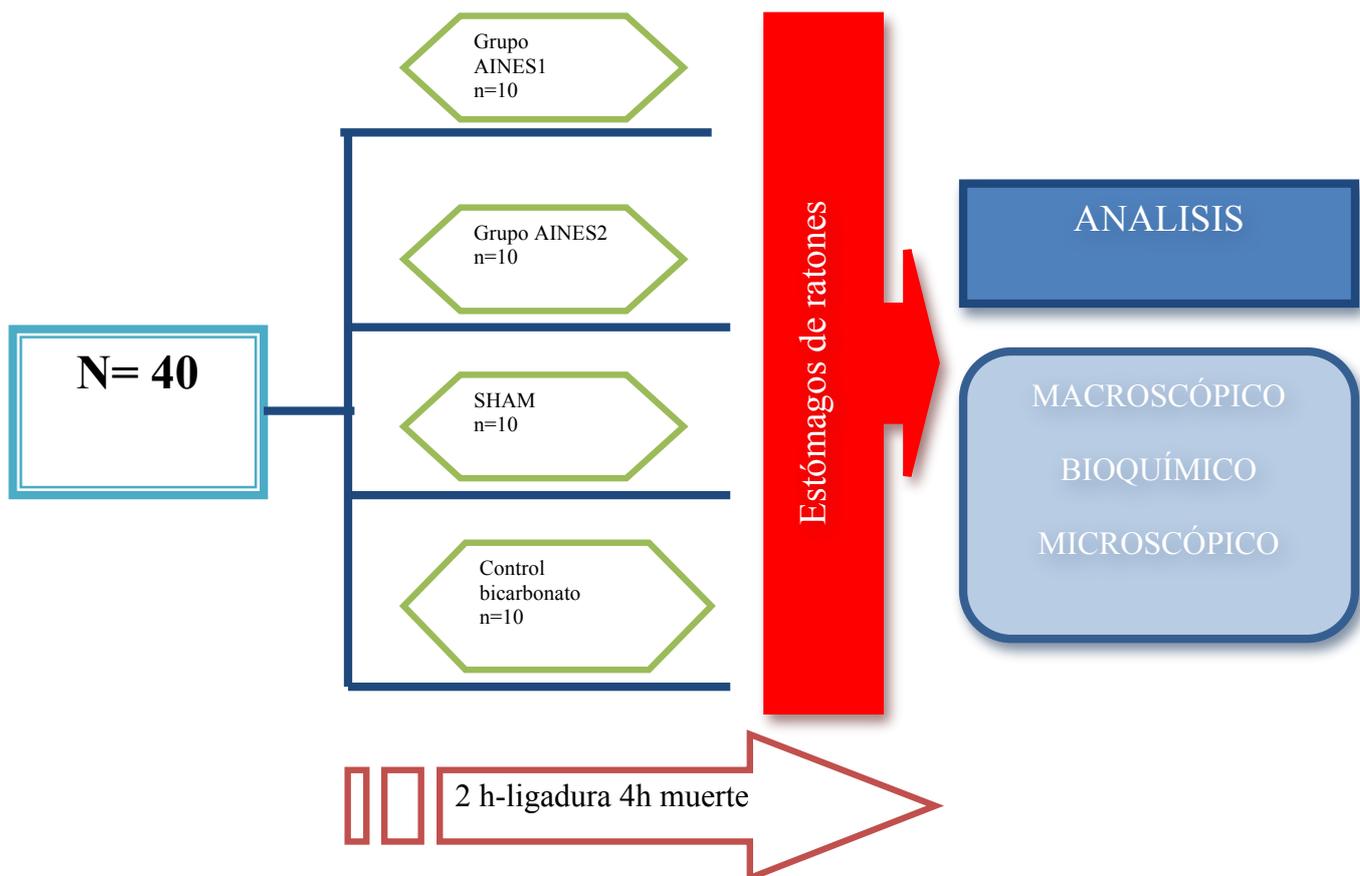
Procedimientos experimentales

Estandarización del modelo de Inducción de úlceras

Se utilizó una n=10 ratones por cada grupo de estandarización, con el fin de evaluar si el método que se aplicó era eficaz para la producción de úlceras gástricas. Los ratones se sometieron a 24 horas de ayuno sólido y 12 horas de ayuno líquido, en cajas anticoprofágicas. Los experimentos se realizaron durante la misma hora del día para evitar variaciones debido al ritmo diurno de reguladores putativos de las funciones gástricas.

Se preparó una solución de Indometacina utilizando codisolvente Bicarbonato de sodio al 4% para evitar su inactivación por el pH ácido del estómago. Al grupo AINES1 se le administró el medicamento a dosis de 40 mg/kg (45). Al grupo AINES2 se le administró Indometacina a 68 mg/kg ambos por medio de una cánula. Al grupo SHAM solo se sometió a ayuno y al grupo control de bicarbonato se le administró solución de Bicarbonato de sodio al 4% en igual proporción que cuando se administró la Indometacina. Dos horas después todos los ratones se sometieron a ligadura pilórica y seis horas después de la inducción de las úlceras con Indometacina fueron sacrificados para el análisis del estómago y su contenido.

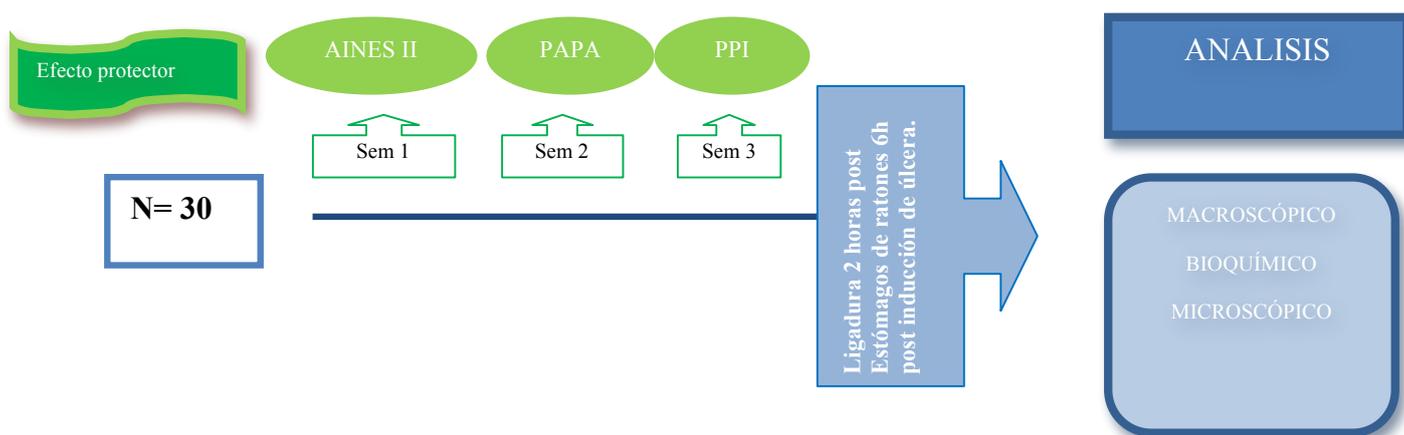
Figura 9. Estandarización del modelo de inducción de úlceras con Indometacina.



Efecto protector

Se realizó con una n=30 ratones, sexo femenino, distribuidas al azar en tres grupos. El grupo AINES2, grupo control de inducción de úlceras, tenía las mismas características que el utilizado en la estandarización del modelo. El grupo PAPA se le aplicó suspensión de papa a 20 ml/kg. Al grupo control PPI se le aplicó 30 mg/kg de Omeprazol disuelto en solución de bicarbonato de sodio al 4% (60). Ambos se administraron una hora antes de la inducción de las úlceras con Indometacina por cánula.

Figura 10. Experimento del efecto protector de la suspensión *S. tuberosum* del modelo de inducción de úlceras con Indometacina.



Procesamiento y Análisis de las Muestras

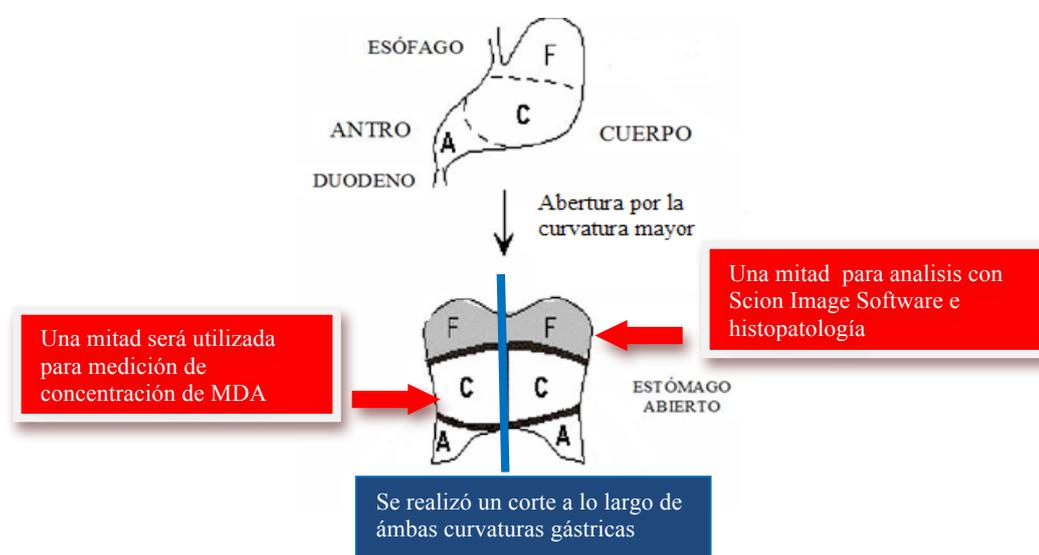
Recolección de contenido gástrico por ligadura pilórica

Bajo ligera anestesia con ketamina a dosis de 200 mg/kg (61) se practicó una pequeña incisión abdominal y se ligó el píloro, teniendo el cuidado de evitar traumatismos a los vasos sanguíneos circundantes. Después se suturó la incisión (62).

Extracción de contenido gástrico

Posterior a ligadura pilórica y 6 horas después de haberles inducido las úlceras con Indometacina todos los grupos de ratones se sacrificaron por dislocación cervical. Se realizó una incisión de laparotomía abdominal, se extrajo el estómago de cada animal, pinzando el tercio inferior del esófago y el píloro. Se obtuvo el contenido gástrico con ayuda de una micropipeta, utilizando siempre puntas nuevas entre muestra (63)(64).

Figura 8. Diagrama de ubicación y gastrectomía del estómago de ratón. Tomado de “Anatomía del ratón del laboratorio” (44)



Procesamiento del estómago

Se realizó una incisión de laparotomía abdominal y se extrajo el estómago de cada animal, pinzando el tercio inferior del esófago y el píloro, efectuando una gastrectomía. El estómago se seccionó a lo largo de la curvatura mayor para su observación, éste se lavó con solución salina normal y se cortó en dos porciones, de ellas la primera se colocó en nitrógeno líquido para su conservación y posterior análisis bioquímico. La segunda porción se colocó sobre papel plástico transparente, para la digitalización de la imagen y posterior análisis utilizando al programa Scanner Scion Image Software y finalmente análisis histopatológico.

Obtención de macerado de células gástricas para determinación de MDA

Se tomó la mitad del estómago y se congeló con nitrógeno líquido e inmediatamente después de la descongelación se trituró en 200 uL de agua destilada con un mortero y pistilo previamente enfriados.

Efecto de la conservación de las muestras gástricas por congelación sobre la concentración de MDA

Dentro de los requerimientos del TBARS Kit-assay para determinación de MDA, se requirió que los reactivos, incluyendo las muestras, estuvieran frescos (65). Con cada preparación de los mismos se obtenía suficiente reactivo hasta para un aproximado de 40 muestras. Por la limitante de no poder procesar todas las muestras en un día, se diseñó un experimento para medir el efecto de la conservación de los tejidos en congelación con nitrógeno líquido vs. tejidos frescos en la concentración de MDA. 10 muestras de estómago de dos grupos experimentales (n=5 por grupo) fueron almacenadas en nitrógeno líquido por más de 24 horas y otras 10 muestras de tejido frescos de los mismos grupos (n=5 por grupo) fueron procesadas para verificar si existía una variación en los resultados de las concentraciones de MDA entre estos.

Análisis Bioquímico

Medición de pH de jugo gástrico

El contenido gástrico se extrajo con micropipeta previa escisión de la pared de la curvatura menor. Se utilizaron tiras indicadoras de pH de Color Hast, con rango de 2.5 a

4.5 y papel pH “Duotest” de la marca Macherey-Nagel, con rango de 3.5 a 6.8. Se recolectó el jugo gástrico de ratones a los cuales se le aplicó el indicador de pH utilizando la escala colorimétrica de la tira y el papel registrándose los valores para ambas.

Medición de lipoperoxidación (concentración de MDA) mediante la prueba TBARS

(determinación de las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico)

Para la medición de lipoperoxidación se utilizó el macerado de células gástricas. Cada una de las muestras de estómago de ratón se colocó en tubos de ensayo previamente etiquetados a un volumen de 100 uL. Se añadió 100 uL de solución de Dodecil sulfato de sodio (SDS) y se mezcló. Posteriormente se colocaron 2.5 ml de ácido tiobarbiturico (TBAR)/ Buffer decantado lentamente por el borde de cada uno de los tubos de ensayo. Se cubrieron los tubos de ensayo con esferas de vidrio para evitar la evaporación durante la incubación a 95°C (por baño maría) por 60 minutos. Los tubos de ensayo calientes se colocaron en un baño de hielo por 10 minutos y se centrifugaron los tubos a 3000 rpm por 15 minutos. La lectura de cada uno de los tubos con el espectrofotómetro a 532 nm se realizó al sobrenadante obtenido posterior a la centrifugación (65).

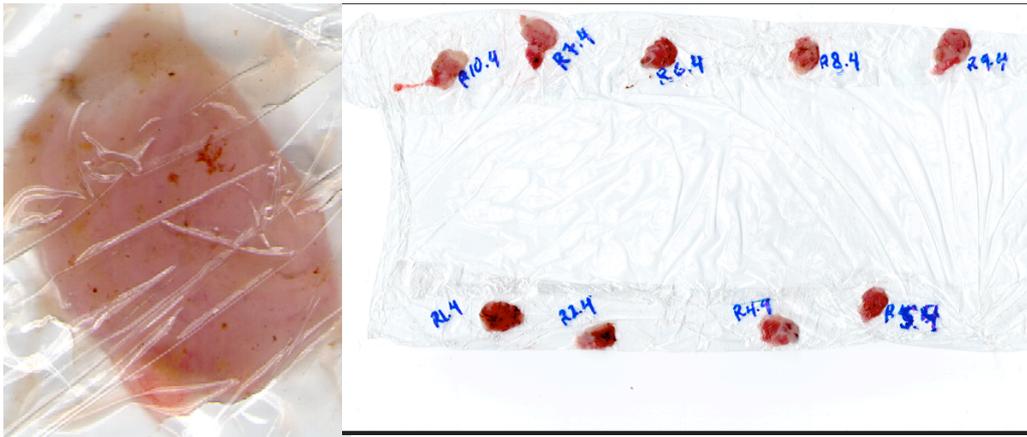
De igual forma se obtuvo una curva patrón la cual permitió determinar el valor de lipoperoxidación de cada muestra en función de la concentración en nmol/ml de MDA.

Análisis Macroscópico mediante análisis digital de imágenes de la superficie del estómago

La mitad del estómago se colocó en papel transparente y se realizó la digitalización de las imágenes macroscópicas por medio del scanner marca Epson modelo Stylus TX 160, el cual previamente se calibró en modo profesional en una resolución de 600 dpi. Dicha

imagen se archivó en formato .TIFF codificándola según el grupo y número de ratón en una base de datos. Finalmente estas imágenes se analizaron utilizando el programa Scion Image Software (accesible en http://www.scioncorp.com/pages/scion_image_windows.htm), según el procedimiento descrito por Khan et al.(53)

Figura 9:



Estandarización de filtros

H.A. Khan et al. recomienda, para la lectura de muestras de tejido, un filtro estándar de 125 (53). Sin embargo también se menciona que es adecuado buscar un filtro específico para las muestras que se van a analizar bajo diferentes condiciones experimentales. Para éste experimento se probó con los filtros de 125, 130, 135, 140, 145, 150 hasta 155 para determinar cuál es el más específico para la lectura de tejido gástrico (53).

Análisis Microscópico

Posteriormente a la digitalización de las imágenes se tomó al azar 2 de los estómagos de cada grupo; estos se fijaron en formalina al 10% y se enviaron al laboratorio de patología, donde se determinó microscópicamente la presencia o no de lesión, a través

de una tinción con eosina y hematoxilina, utilizando la escala patológica diseñada por Morini G. y Grandi D. (ver cuadro 3).

Recolección y plan de análisis de datos.

Los datos obtenidos se almacenaron en una base de datos creada en Microsoft Excel 2011 para Mac OS.

El análisis estadístico, se realizó con el programa SPSS 16.0 realizando las siguientes pruebas:

- Exploratorio
 - Prueba de normalidad: Kolmogorov-Smirnov
 - Prueba de Levene para homogeneidad de varianzas
 - Análisis de frecuencias
- Pruebas no paramétricas
 - Prueba de U Mann Whitney,
 - Kruskal Wallis , y prueba deDunn
- Pruebas paramétricas
 - ANOVA y Dunett

Los gráficos fueron creados por los programas SPSS 16.0 y por Graphpad de Prism 5.0 para Mac OS X.

Consideraciones Éticas

El trato que se dio a los animales de experimentación estuvo basado en la guía “Guide for care and use of laboratory animals”, en el acta de bienestar animal (AWA) y en el documento: “Elementos esenciales para investigación animal, una guía para la investigación personal” del centro de información del bienestar animal del departamento

de agricultura de Estados Unidos de América. De esta manera se brindaron condiciones adecuadas para su mantenimiento y se provocó el mínimo dolor para la aplicación de los medicamentos y sustancias en experimentación; además de una muerte sin sufrimiento realizando posterior a ello la extracción de sus estómagos para la evaluación bioquímica y patológica (66).

RESULTADOS

Caracterización espectrofotométrica de los extractos de *S. tuberosum*.

Gráfico 1: Caracterización espectrofotométrica de *S. tuberosum*.

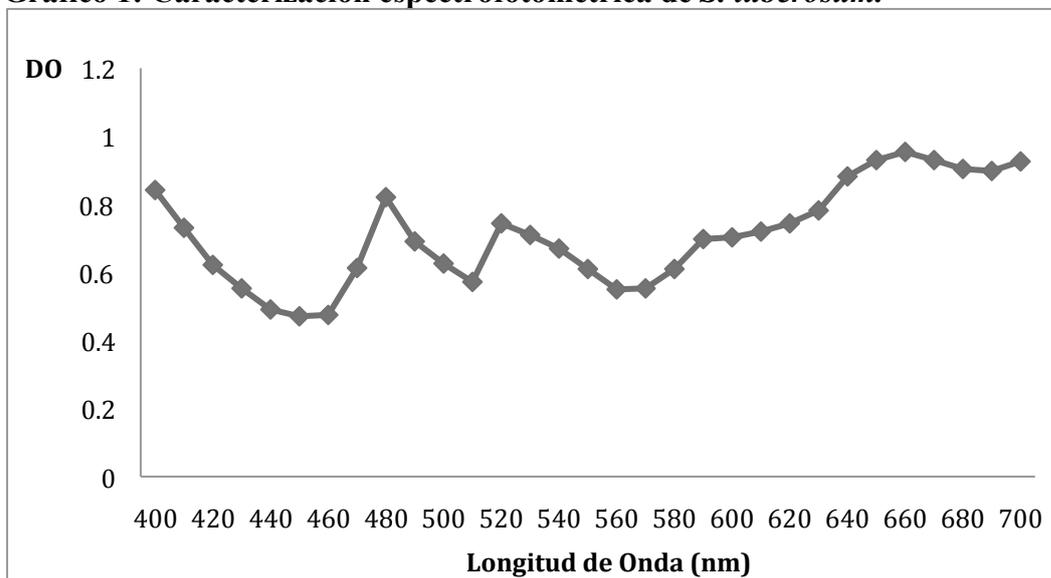


Gráfico 1. Espectro de absorción de 400 a 700 nm de *S. tuberosum*

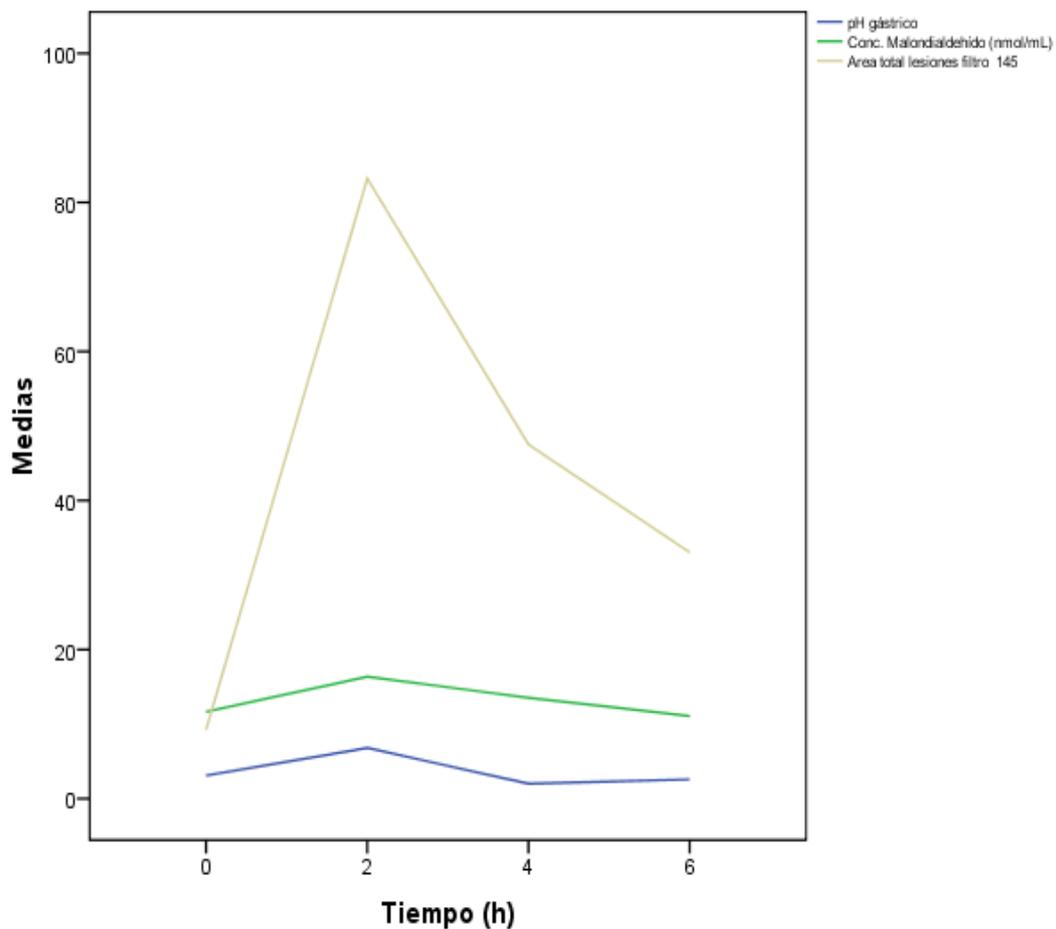
En el gráfico 1 se observa que el espectro refleja varios máximos de absorción entre ellos los más notables son 480 nm, 520 nm, 590 nm y 660 nm. Algunos de ellos podrían corresponder a sustancias presentes en los extractos de *S. tuberosum* como son los carotenoides (480 nm) y la clorofila (663 nm)(67).

Caracterización del modelo de inducción de úlcera por Indometacina:

En el gráfico 2 se muestra el efecto de la Indometacina a concentraciones de 68 mg/kg de peso en la mucosa gástrica de los ratones en el tiempo para los variables pH y concentración de MDA y área total de lesiones. Podemos apreciar que es a las dos horas de inducción del modelo que se observa un aumento en todos los parámetros siendo el más evidente el área total de lesiones con filtro de 145 el cual es atribuible al efecto del bicarbonato utilizado como co-disolvente de la Indometacina ya que el pH era alcalino y muy cercano al de la solución de Bicarbonato al 4% y de la Indometacina. A este

tiempo el 100 % de los estómagos tenían sangre abundante. Posteriormente a los tiempos 4 y 6 se da una disminución del pH. Estos cambios son estadísticamente significativos ($p=0.05$). La variable área total de lesiones mostró una tendencia a la significancia estadística ($p=0.097$). A las seis horas también se observó sangre en los intestinos de los ratones y lesiones finas lineales concuerdan con las descritas para la Indometacina. La concentración de MDA resultó no significativa para cualquier tiempo del experimento ($p=0.726$).

Grafico 2: Cinética del efecto de Indometacina en ausencia de ligadura gástrica



Cuadro 10: Cuadro de cinética con Indometacina

	Tiempo	N	Mean Rank	Medias	DS
pH gástrico	0	3	7.17	3.1	0.66
	2	3	12.00	2.0	0.87
	4	3	4.00	2.58	2.05
	6	4	5.38	3.08	1.56
	Total	13			
Conc. Malondialdehído (nmol/mL)	0	3	6.33	11.6	7.62
	2	3	9.00	16.3	11.2
	4	3	7.33	13.5	3.97
	6	4	5.75	11.1	4.63
	Total	13			
Area total lesiones filtro 145	0	3	3.00	9.21	8.47
	2	3	11.00	83.2	22.5
	4	3	7.00	47.5	53.9
	6	4	7.00	33.1	11.9
	Total	13			

Estandarización del modelo de inducción de úlcera gástrica con Indometacina**Estandarización de la dosis de Indometacina**

La estandarización se realizó con una N=44 ratones, 10 formaban el grupo SHAM, 10 el grupo AINES1, 10 el grupo AINES2, 10 el grupo Bicarbonato y 4 ratones el grupo AINES2 sin ligadura. Se excluyó un total de 5 ratones debido a muertes, por complicaciones postoperatorias.

En el cuadro 11 se observan los resultados de pH y concentración de MDA obtenidos de la estandarización del modelo, los cuales muestran valores estadísticamente significativos para la concentración de MDA ($p=0.024$) en los grupos de estandarización. Un análisis más específico, reveló que la concentración de MDA, es estadísticamente significativa ($p<0.05$) entre los grupos AINES1 ($8.31 \text{ nmol/ml} \pm 3.33$)

y SHAM (17.23 nmol/ml \pm 4.42). Siendo el daño producido por la Indometacina a 40mg/kg de peso menor que el producido por la ligadura solamente.

Con respecto al pH gástrico la diferencia también es estadísticamente significativa entre los grupos ($p=0.024$), y lo es particularmente entre el grupo AINES2-SL (3.07 \pm 1.55) y Bicarbonato (5.94 \pm 0.80)($p<0.05$). Este resultado concuerda con el encontrado en la cinética del modelo de Indometacina sin ligadura descrita previamente.

También con la prueba U de Mann-Whitney las diferencias entre AINES2 y AINES2-SL muestra una $p=0.071$. Lo cual quiere decir que el pH no es estadísticamente diferente entre estos dos grupos, a pesar de la ligadura, la cual hace que la sangre producida se retenga en el estómago; por eso esta cerca de la significancia, ya que la sangre es una variable que genera confusión. Según estos resultados se infiere que la Indometacina a dosis de 68 mg/Kg, logra acidificar el pH a pesar del efecto alcalino producido por la sangre (cuadro 12).

Cuadro 11. Valores de pH y concentración de MDA en grupos de estandarización del modelo

Grupos ^a		N	Media	DS*
pH gástrico	Sham	8	5.14	1.32
	Bicarbonato ^b	7	5.94	0.80
	AINES 1 (40mg/kg)	9	4.83	0.96
	AINES 2 (68mg/kg)	9	5.00	0.42
	AINES 2-SL ^b	4	3.07	1.55
	Total	37		
Conc. Malondialdehído (nmol/mL)	Sham ^b	8	17.23	4.42
	Bicarbonato	6	14.02	5.16
	AINES 1 (40mg/kg) ^b	8	8.31	3.33
	AINES 2 (68mg/kg)	9	16.07	8.23
	AINES 2-SL	4	11.1	4.62
	Total	35		

a. Prueba de Kruskal Wallis pH gástrico $p=0.024$
Conc. Malondialdehído $p=0.024$

b. Diferencias estadísticas significativas Prueba de Dunn

*Desviación estándar

Cuadro 12. Resultados de comparación AINES2 y AINES2-SL

Grupos		N	Mean Rank	Sum of Ranks
pH gástrico	AINES 2	9	8.28	74.50
	AINES 2-SL	4	4.12	16.50
	Total	13		
Conc. Malondialdehído (nmol/mL)	AINES 2	9	7.67	69.00
	AINES 2-SL	4	5.50	22.00
	Total	13		
Area total lesiones filtro 145	AINES 2	9	7.33	66.00
	AINES 2-SL	4	6.25	25.00
	Total	13		

Mann-Whitney U pH gástrico p=0.071
 Conc. Malondialdehído (nmol/mL) p=0.355
 Area total lesiones filtro 145 p=0.643

En el cuadro 13 se muestra las diferencias de los resultados de las pruebas bioquímicas entre las dosis de Indometacina utilizadas. Los cuales para concentración de MDA da un valor estadísticamente significativo ($P < 0.05$) entre los grupos AINES1 ($8.31 \text{ nmol/ml} \pm 3.33$) y AINES2 ($16.07 \text{ nmol/ml} \pm 8.23$), lo cual refiere que el aumento de dosis produce mayor concentración de MDA.

Cuadro 13: Diferencias entre concentraciones de Indometacina

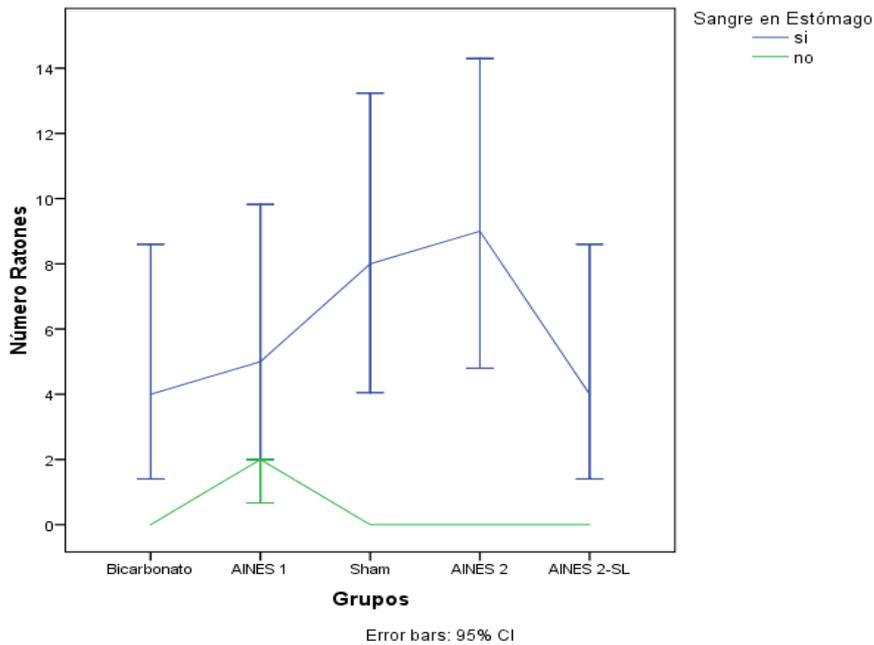
Grupos		N	Mean Rank	Sum of Ranks
pH gástrico	AINES 1 (40mg/kg) ^b	9	8.56	77.00
	AINES 2 (68mg/kg)	9	10.44	94.00
	Total	18		
Conc. Malondialdehído (nmol/mL) *	AINES 1 (40mg/kg) ^b	8	6.38	51.00
	AINES 2 (68mg/kg)	9	11.33	102.00
	Total	17		

*Prueba de Mann-Whitney U p=.046

En estos grupos no hay diferencia significativa con relación al pH, posiblemente al distractor de la sangre ya que hay que tomar en cuenta que la ligadura puede causar un acúmulo de la misma. Esto lo podemos apreciar de una mejor forma en el gráfico 3 en el

cual se muestra la diferencia entre los grupos de SHAM, AINES1 y AINES2 con respecto al pH y la presencia de sangre en el contenido gástrico.

Gráfico 3: Relación entre pH y presencia de sangre.



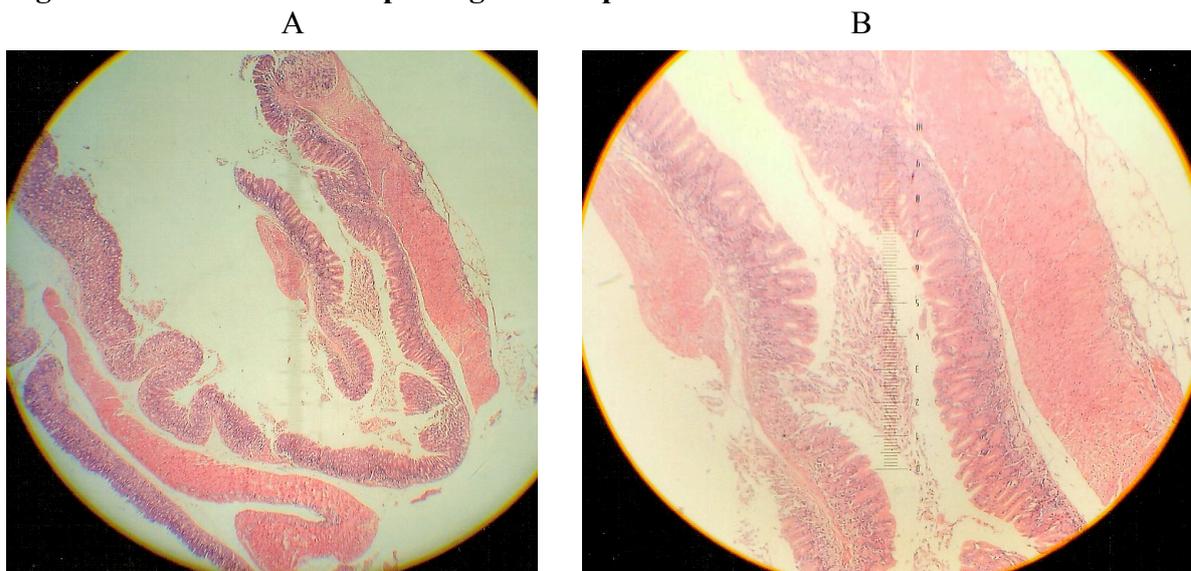
El estudio histopatológico de estas muestras reveló que el 100% del grupo de AINES1 presentó una lesión equivalente al grado II según la escala de patología utilizada para ésta investigación y el 100% del grupo AINES2 una lesión grado III

Figura: 10. Resultados histopatológicos Grupo AINES1



En la figura se observa edema intersticial delimitada a la región subepitelial (A). Adicionalmente se observa un conglomerado de células inflamatorias a nivel de la lámina propia (B).

Figura 11: Resultados histopatológicos Grupo AINES 2



En la figura 11 A y B se observa además de edema subepitelial, la presencia de discontinuidad del epitelio superficial.

Estandarización Métodos Bioquímicos

Efecto de la preservación de las muestras

En el cuadro 14 se observan resultados del efecto de la conservación por congelación de los tejidos respecto al uso de tejidos frescos en la determinación de las concentraciones de MDA, los cuales dan una diferencia no significativa ($p=0.298$) indicando que la preservación en nitrógeno líquido de los tejidos no produce cambios en las concentraciones de MDA.

Cuadro 14. Efecto de congelación

	Efecto congelación	N	Mean Rank
Conc. Malondialdehído (nmol/mL)	Bicarbonato-congelación *	4	11.38
	Bicarbonato- sin congelación*	3	10.67
	AINES 1- congelación*	4	6.38
	AINES1 - sin congelación*	5	6.60
	Total	16	

*Diferencia no significativa $p \geq 0.05$

+ Hallazgos comparados usando prueba no paramétrica U de Mann-Whitney

Estandarización de filtros

En las siguientes imágenes (Figura 12 y 13) se muestran la acción de los diferentes filtros y como se afecta el área de la lesión a medida que se aumenta su valor con el objetivo de encontrar el filtro que más se asemeja a las lesiones de Indometacina que se observan macroscópicamente.

Figura 12: Efecto de filtros del Software Scion Image en el grupo AINES 2

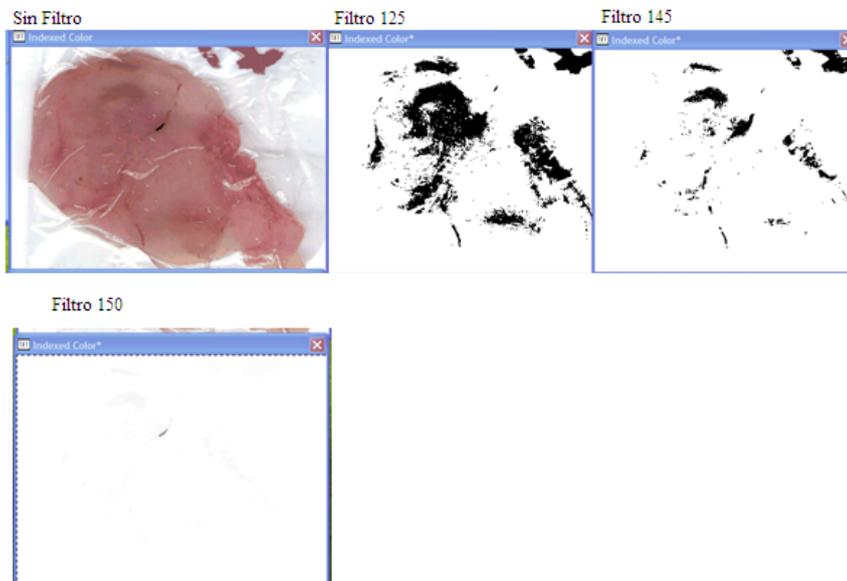
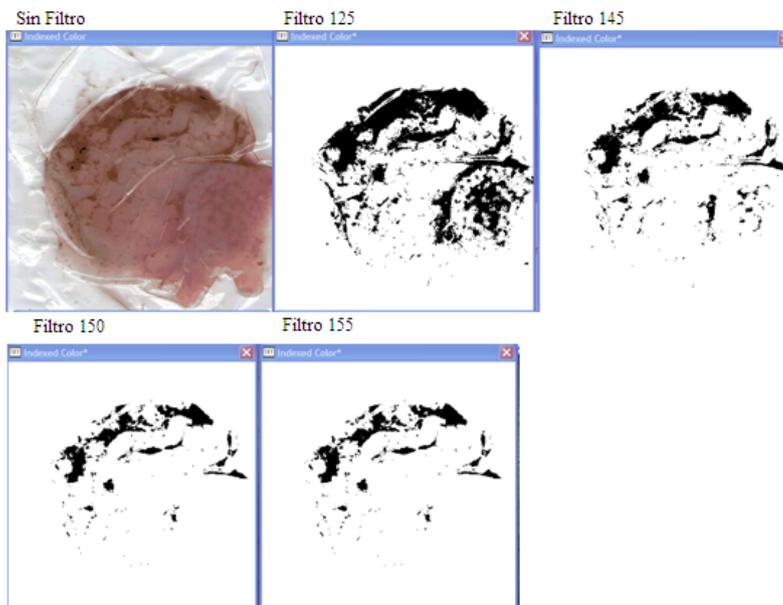


Figura 13: Efecto de filtros del Software Scion Image en el grupo de PAPA.



De acuerdo con estas imágenes, el filtro que más se asemeja a la lesión es el 145, el cual se seleccionó para el análisis macroscópico de las lesiones. En el gráfico 4 se aprecia, una disminución de la media de área de lesiones al usar el filtro 145 entre los grupos de experimentación. En el gráfico 5 se observa la diferencia de las medias de desviaciones estándares de los dos filtros, observando que los valores en el filtro 145 son contrarios a los esperados. Sugiriéndonos que el método tiene limitantes cuando se trabaja con sustancias coloreadas que dejan residuos en la superficie. Por lo que se decidió no incluir este análisis para medir el efecto protector de la suspensión de papa

Gráfico 4: Media de área total de lesiones filtro 125 y 145.

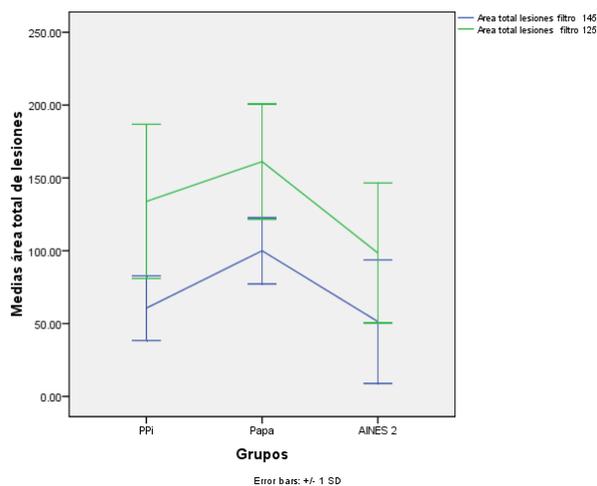
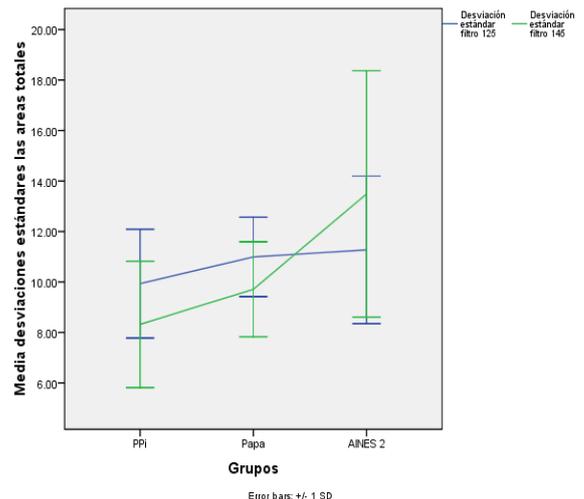
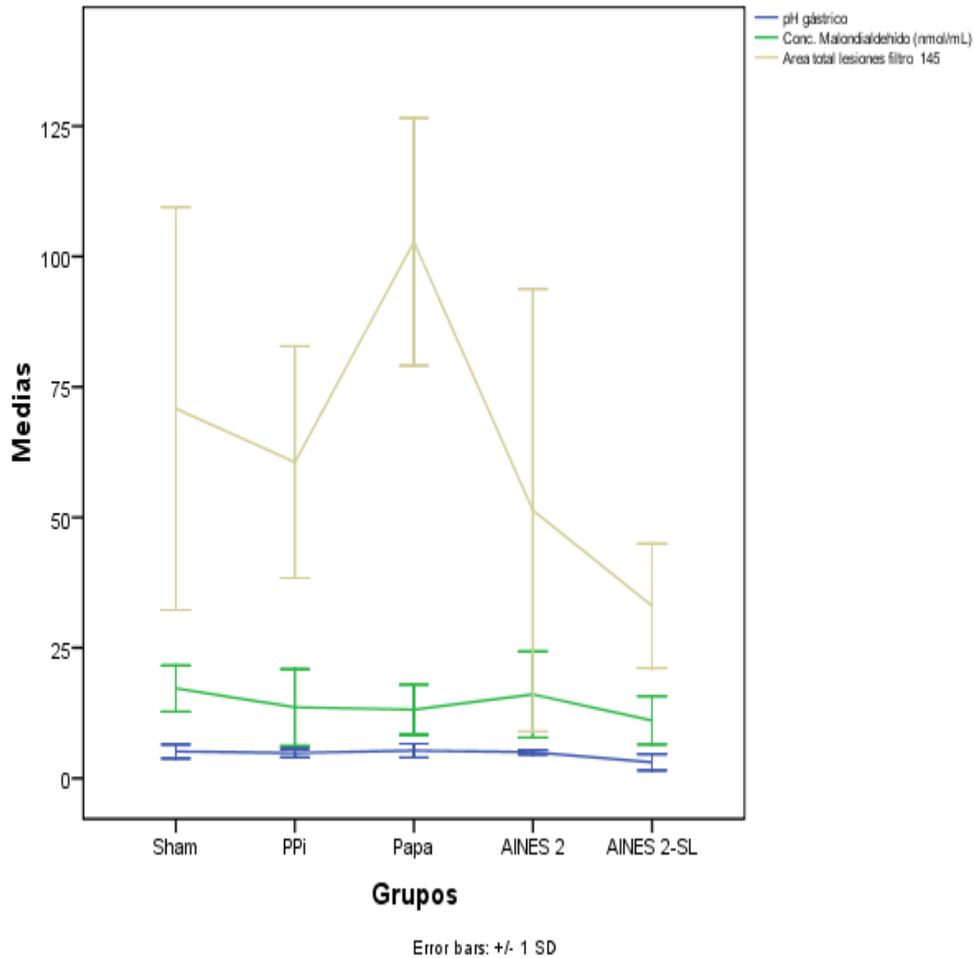


Gráfico 5: Media de desviación estándar, filtro 125 y 145.



En el gráfico 6 se puede apreciar las diferencias de tendencias del daño producido en el tejido utilizando por parámetros bioquímicos y de análisis los cuales tiene tendencias similares en los grupos controles y una relación inversa en el grupo Papa lo cual reafirma la observación de que las sustancias presentes en la mucosa interfieren con la lectura del área de lesiones

Grafico 6: Comparación Método de análisis macroscópico de lesiones con los métodos bioquímicos



Evaluación del efecto protector de *S. tuberosum*

A continuación, en el cuadro 15, se muestran los resultados obtenidos con la prueba de ANOVA para las variables de pH gástrico ($p=0.653$), Concentración de Malondialdehído ($p= 0.51$).

Cudro 15: Resultado de ANOVA de Efecto protecto de S. tuberosum.

		N	Media	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Sig.
						Lower Bound	Upper Bound	
pH gástrico	Sham	8	5.14	1.32	0.47	4.03	6.24	0.653
	PPi	9	4.84	0.81	0.27	4.22	5.47	
	Papa	11	5.41	1.26	0.38	4.56	6.26	
	AINES 2	9	5.00	0.42	0.14	4.67	5.33	
	Total	37	5.11	1.01	0.17	4.78	5.45	
Conc. Malondialdehído (nmol/mL)	Sham	8	17.23	4.42	1.56	13.54	20.92	0.51
	PPi	9	13.60	7.33	2.44	7.97	19.24	
	Papa	9	13.16	4.82	1.61	9.45	16.86	
	AINES 2	9	16.07	8.23	2.74	9.74	22.40	
	Total	35	14.95	6.40	1.08	12.75	17.15	

En el gráfico 7 se muestra la diferencia entre los grupos de experimentación en cuanto a la presencia de contenido gástrico y sangre. Se observa que en el grupo PAPA hay disminución de sangre relacionada con aumento en la presencia de contenido gástrico en la cual en su mayoría se observó una sustancia similar al moco (Figura 14).

Gráfico 7: Presencia de sangre y contenido gástrico en grupos experimentales

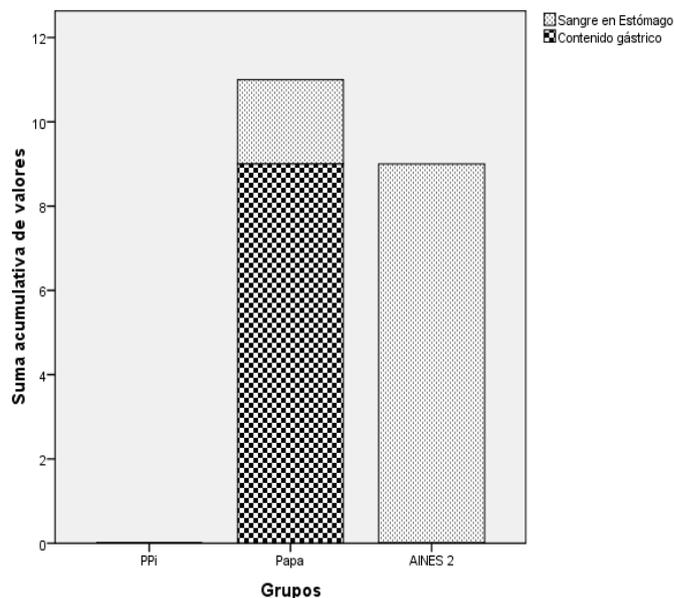
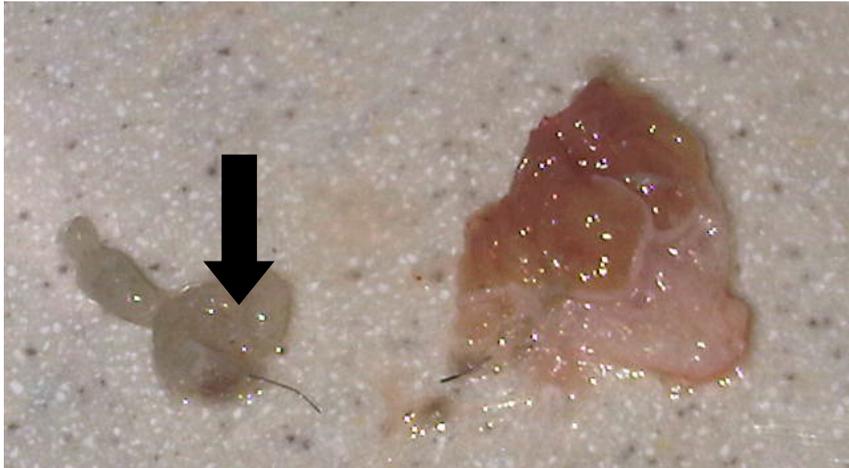


Figura 14: Presencia de sustancia similar a moco en contenido gástrico



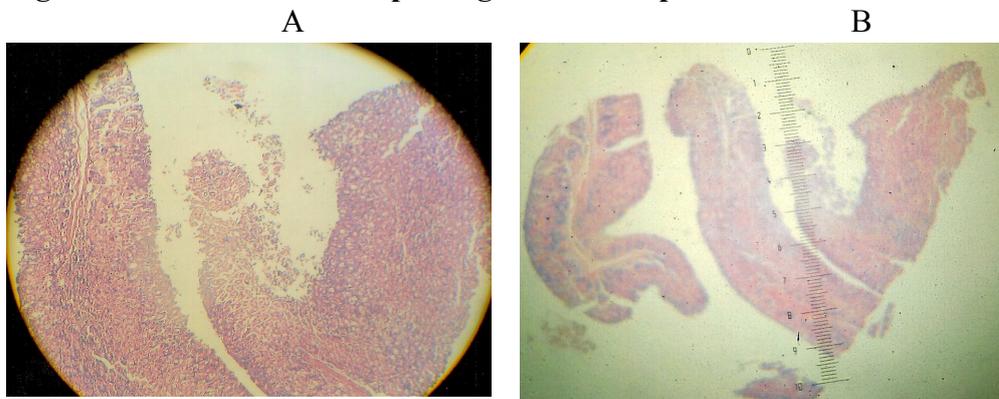
A continuación en el cuadro 16 se muestran los resultados del estudio histopatológico de los grupos de AINES2, PPI y PAPA según la escala diseñada por Morini G. Y Grandi D. Los resultados indican que en el grupo AINES2, donde anteriormente se encontró más presencia de sangre, se detectó mayor grado de lesión (Grado III).

Cuadro 16:

Resultado Histopatológico	
Ratón/Grupo	*Escala patológica
R2/ AINES2	III
R5/ AINES2	III
R2/ PPI	II
R5/PPI	II
R2/PAPA	II
R6/PAPA	II

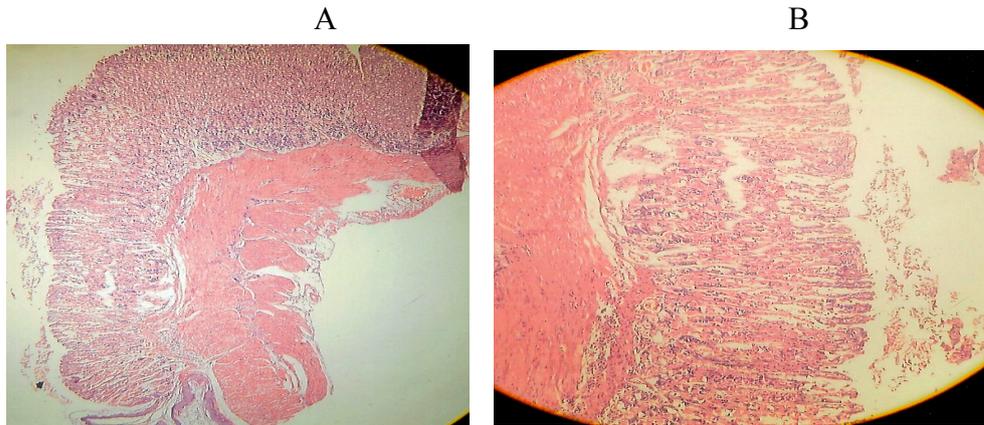
*Escala de Morini D. y Grandi. G.

Figura 15 : Resultados histopatológicos del Grupo PAPA



En la figura 15 A y B se observa edema intersticial subepitelial

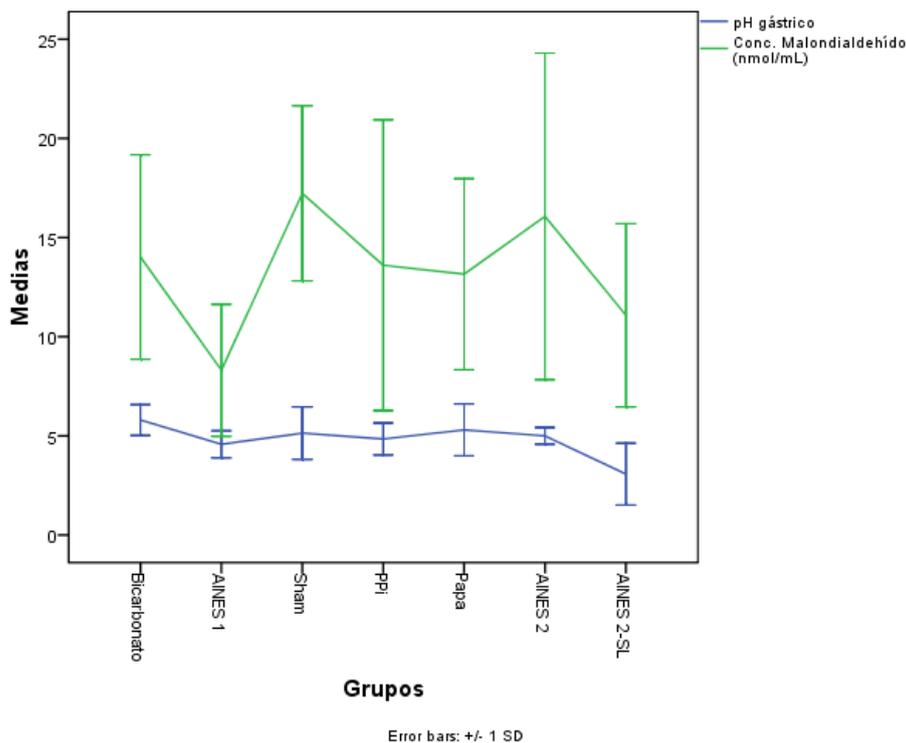
Figura 16: Resultado histopatológicos Grupo PPI



En la figura 16 A y B se observa edema intersticial subepitelial

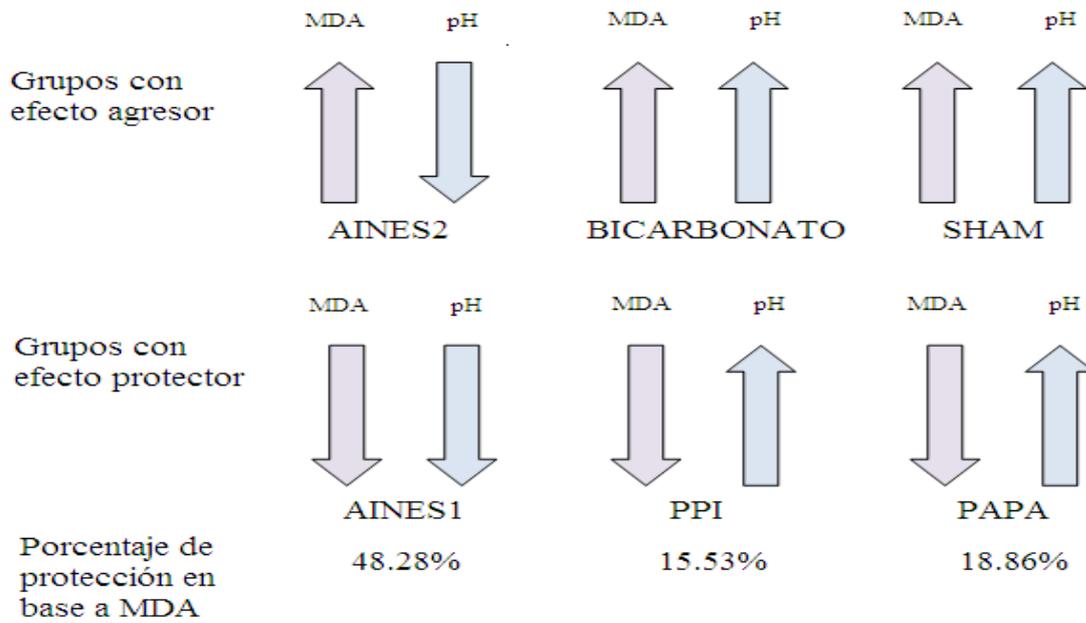
En el Gráfico 8 se observa la relación entre pH y concentración de MDA en los diferentes grupos. Se puede observar que en el modelo utilizado hay tres inductores de lesiones gástricas: La ligadura (grupo SHAM), el Bicarbonato de sodio al 4% (grupo Bicarbonato), y la Indometacina 68 mg/kg (grupo AINES2). Lo cual sugiere que las lesiones en este modelo no es debido a un solo factor. También hay tres sustancias con actividad protectora en la mucosa: Indometacina 40 mg/kg, el omeprazol y el extracto de *S. tuberosum*.

Gráfico 8: Correlación entre pH y concentración de MDA en los grupos



En la figura 17 se muestran las sustancias detectadas como gastrolesivas y las 3 sustancias detectadas como posibles gastroprotectoras con su respectivo porcentaje de protección tisular en base a concentración de MDA.

Figura 17:



Discusión:

La generación de la úlcera péptica inducida por AINES posee diversos mecanismos, muchos de los cuales no están aún perfectamente dilucidados (68). Por esta razón el tratamiento se presta a explorar nuevas terapias alternativas y muchas de estas involucran altos costos económicos, lo cuál hace difícil para poblaciones de bajo recursos, obtenerlas. Es aquí cuando se hace necesario el estudio de sustancias naturales como *S. tuberosum* (7).

Caracterización espectrofotométrica de los extractos de *S. tuberosum*.

En el gráfico 1 se observa que el espectro refleja varios máximos de absorción entre ellos los de mayor interés son los de 480 nm, el cual podría corresponder a la presencia de carotenoides y 660 nm que podría corresponder a la presencia de clorofila (67). Uno de los carotenoides más abundantes en la papa es la violaxantina (7) la cual funciona como una provitamina A en los tejidos (69). La principal función biológica de los carotenoides es inhibir la propagación de especies reactivas de oxígeno y otros radicales libres en la planta; por lo tanto impide la acción nociva de éstos en las membranas celulares (70). También juega un papel para la diferenciación celular, la activación de los genes sensibles al ácido retinoico y la estabilidad de membrana. Además desempeña un papel en la formación de moco (71). Además de los carotenoides la papa posee otros compuestos que podrían estar relacionados en su acción protectora como: ácido ascórbico y fibra dietética (71)(43).

Caracterización del modelo de úlcera inducida por Indometacina

El modelo reproducido tiene características similares a los reportados ampliamente en la literatura ya que la Indometacina es el fármaco de elección para la inducción experimental de úlceras gástricas e intestinales (68). El gráfico 2 resume las tendencias de los parámetros pH, Área de lesiones y concentración de MDA en el tiempo. El aumento de pH a las 2 horas, puede ser atribuido al uso de la solución Bicarbonato de sodio al 4%, para la administración de Indometacina. Además a las 2 horas se observa presencia de sangre en el contenido gástrico, un aumento en el área total de las lesiones y elevación de la concentración de MDA. Esto último se respalda por lo descrito por Suleyman et. al. quien describe que la Indometacina aumenta la producción de radicales libres a través de la mieloperoxidasa que cataliza la producción de ácido hipocloro derivado del peróxido de hidrógeno que lleva al aumento de los niveles de peroxidación lipídica a las dos horas de haber sido administrada (68). Otros posibles mecanismos de producción de estrés oxidativo es el desacople de las enzimas cinasas de la cadena respiratoria y el efecto agonista de la Indometacina en el receptor de prostaglandina D de los PNL's que estimulan la liberación de histamina (68). Suleyman et. al. describe que posterior a las dos horas se observa una disminución significativa del pH por inhibición de las PG, siendo este uno de los elementos determinantes en la inducción de las úlceras por AINES (68)(72). Debido al vaciamiento gástrico hay una disminución del contenido de sangre, lo cual permite apreciar mejor las imágenes características de las lesiones con patrones lineales finos asociados a las úlceras inducidas por Indometacina y que son diferentes de las inducidas por otros agentes como el etanol (45).

Estandarización del modelo de inducción de úlcera gástrica con Indometacina y ligadura pilórica

Como se observó en el cuadro 11, existe una diferencia de SHAM vs. AINES 1 ($p < 0.05$) con respecto a la concentración de MDA. Esto demuestra que la ligadura pilórica por sí sola es capaz de producir estrés oxidativo y daño en la mucosa. También las concentraciones más bajas de MDA en el grupo AINES1 (40 mg/Kg) pueden ser explicadas por el efecto anti-inflamatorio de la Indometacina (73) la que actúa a esta concentración como citoprotectora de la mucosa gástrica a pesar de que Adjeigba K.O. *et al.* (74) sugieren que esta dosis es capaz de producir lesiones gástricas e intestinales en modelos de ratas. Otro posible mecanismo involucrado en este modelo es que la acción lesiva del bicarbonato (iones OH) pudo haber sido neutralizada por el exceso de iones hidrogeno (H⁺) producido por la Indometacina a esta dosis. Como se resume en el cuadro 13 la dosis de Indometacina de 68mg/kg (AINES2) vs. la dosis de 40 mg/kg (AINES1) ($p < 0.05$) demostró que la primera provocó mayor lipoperoxidación y lesiones demostrables macroscópicas y microscópicamente. Lo anterior se comprueba a través de los resultados histopatológicos, los cuales muestran una lesión grado III en el grupo AINES2 (figura 11) con respecto al grupo AINES1 con una lesión grado II (figura 10).

La efectividad del aumento de dosis también se muestra cuando comparamos los valores de pH de los grupos AINES2-SL vs. Bicarbonato ($p < 0.05$) siendo el primero el que demostró mayor acidéz. En este modelo la ligadura gástrica impide el vaciamiento gástrico y por tanto produce una acumulación de sangre, variable que puede generar confusión cuando se analizan los valores de pH como se muestra en el grafico 3. En este gráfico, la diferencia de pH no es significativa ($p = 0.071$), entre los grupos AINES2 y AINES2-SL.

Bae D.K. *et. al.* encontraron en modelos de inducción de úlceras que la ligadura pilórica induce una retención de ácido gástrico que es secretado por una activación colinérgica y estimula la actividad de la pepsina que resulta posteriormente en una injuria de la pared gástrica y sangramiento que también se acumula (75).

Estandarización de métodos bioquímicos

Efecto de la preservación de muestras

En el cuadro 14, se comprobó que no existe una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.298$) en el caso que los tejidos sean conservados en congelación con nitrógeno líquido durante un período mayor a 24 horas, lo cual implica que éste proceso no afecta el resultado final de las concentraciones de MDA a pesar de que en el método TBARS Assay-kit de Zeptometrix requería la preparación de reactivos frescos (65). El método utilizado por el TBARS Assay-kit para determinar concentración de MDA es colorimétrico. Los fabricantes de este kit (Zeptometrix) reconocen que, a pesar que este es un método confiable, el método más sensible para esta medición es el fluorométrico (65). No se utilizó por falta de disponibilidad del mismo. Esto podría ser una limitante del estudio.

Estandarización de filtros

En el estudio de Gonzalez Melgar R.M.A se menciona que el programa de Scion Image para el modelo de úlcera causada por etanol, es un método práctico y fiable de obtener resultados sobre el área de la lesión (35).

Con base a las ventajas que había mostrado este método se realizó la estandarización para un modelo de úlceras por Indometacina. Khan H.A. utilizó el software de Scion Image, con este propósito y determinó que para este modelo el filtro de 125 era el mejor

para la detección de sangre en tejidos (53). En nuestras condiciones el filtro que ofreció mejores resultados fue el de 145 (figura 12 y 13), sin embargo el extracto de *S. tuberosum* produce restos sólidos coloreados sobre la mucosa gástrica que no necesariamente coinciden con sangre, lo que provoca lecturas de áreas de lesiones que no coinciden con los hallazgos bioquímicos e histológicos, siendo esta una limitante más para este método de análisis digital de imágenes, no descrita en la literatura.

Evaluación del efecto protector de *S. tuberosum*

A pesar que los valores de pH entre los grupos PAPA vs. AINES2 vs. PPI ($p=0.653$) no presentaron diferencias significativas, se observó una tendencia al aumento del parámetro pH en el grupo de PAPA que se comprueba en la figura 17 y en el cuadro 15 que muestra que para este grupo existe una media de pH de 5.41, siendo este el valor más alcalino de todos los grupos. Este aumento de pH no puede ser atribuible a sangramiento, ya que macroscópicamente solo se evidenció este hallazgo en 2 sujetos de experimentación de este grupo (grafico 7). Por ende, se puede considerar que la papa posiblemente tiene acción antiácida sobre la mucosa gástrica, lo cual se respalda con lo descrito por Keville K. et al. quienes refieren que el jugo de *S. tuberosum* es capaz de alcalinizar el jugo gástrico (7) el cual tiene un valor en ayuno de 4 en ratones (76). Todo lo anterior se comprobó con la medición de la suspensión de la papa durante el experimento el cual fue de 5.9.

De la misma forma, los resultados de la concentración de MDA entre los grupos PAPA vs. AINES2 vs. PPI ($p= 0.51$) no fueron estadísticamente significativos. Sin embargo, en el grupo PAPA, hay una tendencia a la disminución de su concentración como se observa en el gráfico 8, figura 17 y en el cuadro 15, donde presentó la media de

concentración de MDA más baja de todos los grupos de experimentación, con un valor de 13.16 nmol/mL. Al hacer una correlación entre las variables de pH y concentración de MDA en el grupo de PAPA, como se aprecia en el gráfico 8, existe una tendencia que a medida que aumenta el pH disminuye la concentración de MDA. Sin embargo la dispersión de los datos en el gráfico 8, muestra que la relación entre pH y concentración de MDA no guardan una relación inversamente proporcional en la totalidad de los sujetos de experimentación.

De la misma forma, en el gráfico 7, se observó un aumento de una sustancia similar al moco (figura 14) en un 100% en el grupo de PAPA lo que podría actuar como un factor gastroprotector ya que como se aprecia, en el gráfico 7, hay una disminución de sangrado intragástrico del 80%.

Hay que tomar en cuenta que en este modelo la lesión inducida ha sido multifactorial, debido a que como se observa en el gráfico 8 y figura 17, existen 3 picos de concentración de MDA en los grupos SHAM, Bicarbonato y AINES2, implicando que estos 3 factores (ligadura pilórica, bicarbonato al 4% e Indometacina 68 mg/kg) actúan como factores lesivos. Incluso, el pico más pronunciado, se observa en el grupo SHAM indicando que la ligadura es de todos los factores el más lesivo y con menos dispersión de resultados. En el mismo gráfico podemos observar, al comparar los grupos SHAM vs. AINES2, que la dispersión de los resultados es mayor en el grupo de AINES2. Esto puede ser debido a que existe una variación genética con respecto a la farmacodinámica de la Indometacina, entre los sujetos de experimentación. Esto se respalda con la variación genética de pepsina en ratones de experimentación descrita por Gonzalez Melgar R.M.A. (35).

Los resultados obtenidos durante la fase experimental, sugieren que al momento *S. tuberosum* no puede ser clasificado como gastroprotector, ni citoprotector. Pero podemos observar ciertas tendencias con las diferentes variables, entre una de ellas la patología que evidencia que con la dosis alta de Indometacina hay discontinuidad del epitelio que mejora con la administración de *S. tuberosum* al revertir a un grado II al igual que el grupo de Omeprazol (cuadro 16, Figura 15 y 16).

En la figura 17 podemos apreciar que tanto el Omeprazol y *S. tuberosum* presentan niveles de organoprotección con relación a la concentración MDA relativamente bajos (15.53% y 18.86% respectivamente). Contrario a AINES1 que presenta una protección de 48.28%. Los valores bajos de los primeros dos grupos pueden ser a consecuencia de que el mecanismo de protección de ambas sustancias está enfocado al aumento del pH. *S. tuberosum* obtuvo una protección gástrica 3.33% mayor con respecto a Omeprazol en un modelo agudo como el realizado en el presente estudio. Para el caso de AINES1, como ya se describió anteriormente, su posible función citoprotectora se encuentra en relación a su efecto anti-inflamatorio (73) aunque se ha descrito por Suleyman H. *et. al.* (68) que AINES como la aspirina a dosis bajas poseen un efecto citoprotector mediante la producción tisular de lipoxinas. Sin embargo este mecanismo no está aún dilucidado para Indometacina.

CONCLUSIONES

- Scion Image posee limitaciones para medir erosiones gástricas al trabajar con pigmentos vegetales.
- El zumo precipitado de *S. tuberosum* variedad Soloma tiene tendencias a actuar como gastroprotector.
- En este experimento el pH resultó ser un parámetro bioquímico fácilmente afectado, por factores distractores como la sangre.
- La congelación de tejidos con nitrógeno líquido no afecta los valores de la prueba de TBARS.
- El parámetro de concentración de MDA es fiable como indicador de estrés oxidativo.
- El zumo precipitado de *S. tuberosum* variedad Soloma no puede ser considerado actualmente como terapia alternativa para tratar úlceras gástricas por Indometacina.

RECOMENDACIONES

- Se debe utilizar una dosis mayor que la descrita por la bibliografía de Indometacina para producir erosión gástrica.
- Considerar la utilización de sobrenadante y precipitado de papa combinados para evaluar su efecto de gastroprotección.
- Se debe comparar los resultados de Scion Image con una medición histopatológica de la totalidad de las muestras.
- Se debe de considerar un método cuantitativo de medición de moco gástrico producido por *S. tuberosum*
- Se aconseja la evaluación de un modelo crónico del uso de *S. tuberosum* para evaluar posible efecto cicatrizante.
- Se recomienda aumentar la N.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barkun A, Leontiadis G. Systematic Review of the Symptom Burden, Quality of Life Impairment and Costs Associated with Peptic Ulcer Disease. *The American Journal of Medicine*. 2010 Apr;123(4):358–366.e2.
2. Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Comunicado, Coordinación de comunicación social. [Internet]. N° 017; 2010. Available from: <http://www.imss.gob.mx/NR/rdonlyres/04D1957C-3AEC-4536-904F-F0D3CB68D2B3/0/260110Com017.pdf>
3. Kattan Milla OA, Cea Rouanet R. Anuario Estadístico 2009 [Internet]. 2009. Available from: http://www.issm.gob.sv/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=8:estadisticas&Itemid=115
4. Laine L, Takeuchi K, Tarnawski A. Gastric Mucosal Defense and Cytoprotection: Bench to Bedside. *Gastroenterology*. 2008 Jul;135(1):41–60.
5. Griffin M. Epidemiology of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug-Associated Gastrointestinal Injury. *The American Journal of Medicine*. 1998 Mar;104(3):23S–29S.
6. Anthony S. Fauci, Eugene Braunwald, Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, J. Larry Jameson, and Joseph Loscalzo, Eds. *Harrison Principios de Medicina Interna*. 17a ed. McGraw-Hill; 2009.
7. Keville K, Stansbury J, Green M, Dodt C, Byers RD, Dffy LK, et al. *Guía Completa de la Medicina Natural*. International Masters Publishers AB; 1999.
8. Worldmapper: The world as you've never seen it before [Internet]. [cited 2011 Apr 9]. Available from: http://www.worldmapper.org/display_extra.php?selected=461
9. Montes Teves P, Salazar Ventura S, Monge Salgado E. [Epidemiological changes in peptic ulcer and their relation with *Helicobacter pylori*. Hospital Daniel A Carrion 2000-2005]. *Rev Gastroenterol Peru*. 2007 Dec;27(4):382–8.
10. Perfil General de Poblacion Salvadoreña [Internet]. [cited 2011 Apr 9]. Available from: <http://www.fao.org/docrep/007/ad929s/ad929s01.htm>
11. Sandoval-Vegas M, Huamán-Gutiérrez O, Oré-Sifuentes R, Loli-Ponce A, Ayala-Pío S. Efecto antioxidante y citoprotector del *Solanum tuberosum* (papa) en la mucosa gástrica de animales de experimentación. *An. Fac. med.* 2010;71(3):147–52.
12. Rodríguez Palomo David ABA. Actualización de la Fisiología Gástrica. *Medicina Legal de Costa Rica* [Internet]. 2010 Sep [cited 2011 Apr 10];27(2). Available from: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1409-00152010000200007&script=sci_abstract
13. Allen A, Flemström G. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. *Am. J. Physiol., Cell Physiol.* 2005 Jan;288(1):C1–19.

14. Lichtenberger LM. Gastroduodenal mucosal defense. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 1999 Nov;15(6):463–72.
15. Tulassay Z, Herszényi L. Gastric mucosal defense and cytoprotection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2010 Apr;24(2):99–108.
16. Nagy L, Morales RE, Beinborn M, Vattay P, Szabo S. Investigation of gastroprotective compounds at subcellular level in isolated gastric mucosal cells. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology.* 2000 Diciembre;279(6):G1201 -G1208.
17. Newton JL. The human trefoil peptide, TFF1, is present in different molecular forms that are intimately associated with mucus in normal stomach. *Gut.* 2000 Mar;46(3):312–20.
18. Thim L, Madsen F, Poulsen SS. Effect of trefoil factors on the viscoelastic properties of mucus gels. *Eur J Clin Invest.* 2002 Jul;32(7):519–27.
19. Werther JL. The gastric mucosal barrier. *Mt. Sinai J. Med.* 2000 Jan;67(1):41–53.
20. Modlin IM, Kidd M, Lye KD, Wright NA. Gastric stem cells: an update. *Keio J Med.* 2003 Jun;52(2):134–7.
21. Lacy ER, Ito S. Rapid epithelial restitution of the rat gastric mucosa after ethanol injury. *Lab. Invest.* 1984 Nov;51(5):573–83.
22. Guth PH. Current concepts in gastric microcirculatory pathophysiology. *Yale J Biol Med.* 1992;65(6):677–88.
23. Fiorucci S, Antonelli E, Distrutti E, Rizzo G, Mencarelli A, Orlandi S, et al. Inhibition of Hydrogen Sulfide Generation Contributes to Gastric Injury Caused by Anti-Inflammatory Nonsteroidal Drugs. *Gastroenterology.* 2005 Oct;129(4):1210–24.
24. Vanwijck R. [Surgical biology of wound healing]. *Bull. Mem. Acad. R. Med. Belg.* 2001;156(3-4):175–184; discussion 185.
25. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Robbins & Cotran Patología humana con CD e acceso a Student Consult.* Elsevier España; 2005.
26. Tarnawski A. Molecular mechanisms of ulcer healing. *Drug News Perspect.* 2000 Apr;13(3):158–68.
27. Chai J, Baatar D, Tarnawski A. Serum response factor promotes re-epithelialization and muscular structure restoration during gastric ulcer healing. *Gastroenterology.* 2004 Jun;126(7):1809–18.
28. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis. *Kidney Int.* 1999 Sep;56(3):794–814.

29. Arrosvide M. T. MD, Ramos A. R. MD, Rivera A. B. MD. *Temas Selectos en Medicina Interna-Gastroenterología*. 1st ed. Sociedad Peruana de Medicina Interna.
30. Rothenbacher D, Brenner H. Burden of *Helicobacter pylori* and *H. pylori*-related diseases in developed countries: recent developments and future implications. *Microbes Infect.* 2003 Jul;5(8):693–703.
31. M. Crespín, R. Hernández CS. Determinación del valor diagnóstico de los métodos utilizados para la detección de *Helicobacter pylori* en pacientes sintomáticos y asintomáticos del servicio de gastroenterología del Hospital Nacional Rosales, año 2004. 2006.
32. Wolfe MM, Lichtenstein DR, Singh G. Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *N. Engl. J. Med.* 1999 Jun 17;340(24):1888–99.
33. Vecina ST. *Farmacología de los antiulcerosos*. *Emergencia*. 2002;14:s2–s13.
34. Departamento de Farmacología y Terapéutica Facultad de Medicina. *Fármacos Antiulcerosos*. Universidad Autónoma de Madrid;
35. Gonzalez Melgar RM. Efecto citoprotector de extractos acuosos de *Indigofera guatemalensis* e *Indigofera suffruticosa* en modelos de úlcera gástricas inducidas por etanol en ratones. Universidad Dr. José Matías Delgado; 2010.
36. Mégraud F. Epidemiology and mechanism of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*. 1998 Nov;115(5):1278–82.
37. van Zwet AA, de Boer WA, Schneeberger PM, Weel J, Jansz AR, Thijs JC. Prevalence of primary *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole and clarithromycin in The Netherlands. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1996 Nov;15(11):861–4.
38. Wurzer H, Rodrigo L, Stamler D, Archambault A, Rokkas T, Skandalis N, et al. Short-course therapy with amoxicillin-clarithromycin triple therapy for 10 days (ACT-10) eradicates *Helicobacter pylori* and heals duodenal ulcer. ACT-10 Study Group. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 1997 Oct;11(5):943–52.
39. Dore MP, Graham DY, Sepulveda AR, Realdi G, Osato MS. Sensitivity of Amoxicillin-Resistant *Helicobacter pylori* to Other Penicillins. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999 Jul;43(7):1803–4.
40. Hurtado Guillermo RCM. *Guía Técnica Cultivo de Papa*. Centro nacional de tecnología agropecuaria y forestal; 2002.
41. Ing. Freddy Fuentes encargado del dpto. de papas. *Visita al Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA) de El Salvador*. 2011.
42. Woot-Tsuen Wu Leung, Marina Flores (primero). *Tabla de composición de Alimentos para uso en América Latina*. 1961.

43. Lic. Maria Mendlu, Lic Humberto Mendez SL. Valor nutritivo de los Alimentos en Centroamerica. Segunda sección; 2000.
44. Cook MJ. Anatomy of the Laboratory Mouse. First ed. Academic Press Inc; 1965.
45. Morini G, Grandi D. Methods to measure gastric mucosal lesions in the rat. *Curr Protoc Toxicol*. 2010 Feb;Chapter 21:Unit 21.2.
46. Weiner H. Use of animal models in peptic ulcer disease. *Psychosom Med*. 1996 Dec;58(6):524–45.
47. Fornai M, Colucci R, Antonioli L, Awwad O, Ugolini C, Tuccori M, et al. Effects of esomeprazole on healing of nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced gastric ulcers in the presence of a continued NSAID treatment: Characterization of molecular mechanisms. *Pharmacol. Res*. 2011 Jan;63(1):59–67.
48. Horiuchi M, Wachi H, Seyama Y. Effects of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Scherff on experimental gastric lesion. *J Nat Med*. 2010 Oct;64(4):430–5.
49. Nair V, Arjuman A, Gopalakrishna HN, Dorababu P, Mirshad PV, Bhargavan D, et al. Evaluation of the anti-ulcer activity of NR-ANX-C (a polyherbal formulation) in aspirin & pyloric ligation induced gastric ulcers in albino rats. *Indian J. Med. Res*. 2010 Aug;132:218–23.
50. Santhosh S, Anandan R, Sini TK, Mathew PT. Protective effect of glucosamine against ibuprofen-induced peptic ulcer in rats. *J. Gastroenterol. Hepatol*. 2007 Jun;22(6):949–53.
51. Devi RS, Narayan S, Vani G, Shyamala Devi CS. Gastroprotective effect of *Terminalia arjuna* bark on diclofenac sodium induced gastric ulcer. *Chem. Biol. Interact*. 2007 Apr 5;167(1):71–83.
52. Gi Lee J, Ho Jin J, Tae Lim H, Don Choi H, Pyo Kim H. Inhibition of Experimental Gastric Ulcer by Potato Tubers and the Starch. *Natural Product Sciences*. 2009;3(15):134–8.
53. Khan HA. Computer-assisted visualization and quantitation of experimental gastric lesions in rats. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 49(2):89–95.
54. Takeuchi K, Tanigami M, Amagase K, Ochi A, Okuda S, Hatazawa R. Endogenous prostaglandin E2 accelerates healing of indomethacin-induced small intestinal lesions through upregulation of vascular endothelial growth factor expression by activation of EP4 receptors. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2010 May;25:S67–S74.
55. Fornai M, Colucci R, Antonioli L, Ghisu N, Tuccori M, Blandizzi C, et al. Effects of pantoprazole on ulcer healing delay associated with NSAID treatment. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol*. 2008 Oct;379(3):305–13.

56. Solmaz A, Şener G, Çetinel Ş, Yüksel M, Yeğen C, Yeğen BÇ. Protective and therapeutic effects of resveratrol on acetic acid-induced gastric ulcer. *Free Radic Res.* 2009 Jan;43(6):594–603.
57. Fulbert JC, Cals MJ. [Free radicals in clinical biology. Origin, pathogenic effect and defense mechanisms]. *Pathol. Biol.* 1992 Jan;40(1):66–77.
58. Pérez Gastell PL, Pérez de Alejo JL. Métodos para medir el daño oxidativo. *Revista Cubana Medica Militar.* 2000 May 12;29(3):192–8.
59. Granados JF, Sobenes PE. Efecto hepatoprotector de ácido etilendiaminotetracético y selenato de sodio en un modelo de daño hepático crónico en ratones. [La Libertad, El Salvador]: Universidad Dr. José Matías Delgado; 2010.
60. Zanatta F, Gandolfi RB, Lemos M, Ticona JC, Gimenez A, Clasen BK, et al. Gastroprotective activity of alkaloid extract and 2-phenylquinoline obtained from the bark of *Galipea longiflora* Krause (Rutaceae). *Chem. Biol. Interact.* 2009 Jul 15;180(2):312–7.
61. UCSF Animal Care & Use Program - Mouse Formulary [Internet]. [cited 2012 Jan 22]. Available from: <http://www.iacuc.ucsf.edu/Proc/awMouseFrm.asp>
62. Toscano MG, Ganea D, Gamero AM. Cecal Ligation Puncture Procedure. *Journal of Visualized Experiments.* 2001.
63. Ávalos A.A., Montero Gómez M. J. MD Phd, Pomar Montalvo F., y Sánchez Gobin E. Actividad antiulcerosa de un extracto etanólico de *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Schult. Bip. en ratas. *REV CUBANA PLANT MED.* 1998;3(3):12–7.
64. Roy S, Niranjana C, Jyothi T, Shankrayya M, Vishawanath K, Prabhu K, et al. Antiulcer and Anti-inflammatory Activity of Aerial Parts *Enicostemma littorale* Blume. *J Young Pharm.* 2010;2(4):369–73.
65. Zeptometrix Corporation. Oxitek TBARS Assay Kit Thiobarbituric Acid reactive substances [Internet]. Zeptometrix Corporation; Available from: www.zeptometrix.com
66. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; National Research Council. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition.* Washington, D.C.: The National Academies Press; 2010.
67. Bertoli Avella MT. Métodos para extraer pigmentos hidrosolubles y estimar parámetros en *Spirulina platensis*. [Habana, Cuba]: Universidad de la Habana, Facultad de Biología, Departamento de Microbiología; 1993.
68. Suleyman H, Albayrak A, Bilici M, Cadirci E, Halici Z. Different mechanisms in formation and prevention of indomethacin-induced gastric ulcers. *Inflammation.* 2010 Aug;33(4):224–34.

69. Delia B. Rodriguez-Amaya. Carotenoides y Preparación de Alimentos: La Retención de los Carotenoides Provitamina A en Alimentos Preparados, Procesados y Almacenados. 1st ed. John Snow, Inc./OMNI Project; 1997.
70. Mínguez Mosquera MI, Pérez Gálvez A, Hornero Méndez D. Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales: mucho más que simples “colorantes” naturales [Internet]. 2005 [cited 2012 Jan 5]. Available from: <http://digital.csic.es/handle/10261/5754>
71. Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF. Nelson Textbook of Pediatrics. 18th ed. Saunders; 2007.
72. Fukui A, Nakazawa S, Goto H, Sugiyama S, Ozawa T. Effects of prostaglandin D2 and omeprazole on indomethacin-induced gastric ulcers in rats. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 1988 Dec;15(12):919–26.
73. Katzung B, Masters S, Trevor A. Basic and Clinical Pharmacology, 9th Edition. 9th ed. McGraw-Hill Medical; 2009.
74. Adjeigba KO, Nwobodo EO, Oyesola TO, Ofusori DA, Olaleye SB. Chloroquine phosphate potentiates indomethacin and HCL/Etanol-induced gastric mucosa injury in rats. International Journal of Pharmacology 4. 2008;6:482–6.
75. Bae D-K, Park D, Lee SH, Yang G, Yang Y-H, Kim TK, et al. Different antiulcer activities of pantoprazole in stress, alcohol and pylorus ligation-induced ulcer models. Lab Anim Res. 2011 Mar;27(1):47–52.
76. McConnell EL, Basit AW, Murdan S. Measurements of rat and mouse gastrointestinal pH, fluid and lymphoid tissue, and implications for in-vivo experiments. J. Pharm. Pharmacol. 2008 Jan;60(1):63–70.

