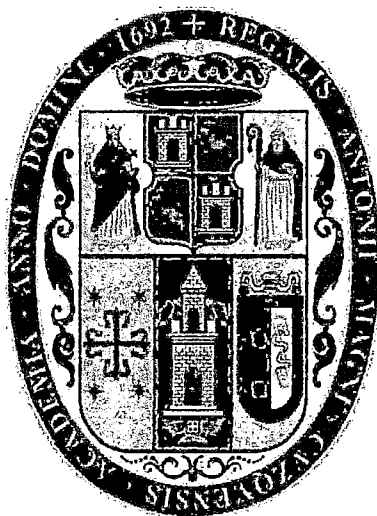


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS, MATEMÁTICAS, FARMACIA E INFORMÁTICA
CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**EVALUACIÓN DEL EFECTO CITOPROTECTOR GÁSTRICO Y EFECTO
HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL
70% DE *Plantago major* L. (LLANTÉN) EN ANIMALES DE
EXPERIMENTACIÓN**

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR: BR. YESSICA ZAMALLOA CHAVEZ

BR. ROSA REYNA PFUYO TUNI

ASESORA: MCS. CARLA DEL CARPIO JIMENEZ

CO-ASESORA: DR. VALMI MIRIAM LUNA FLORES

CUSCO – PERÚ

2011

TESIS AUSPICIADA POR EL CONSEJO DE INVESTIGACIÓN DE LA UNSAAC

DEDICATORIAS

A Dios que está conmigo cada día de mi vida dándome la fuerza y fortaleza que necesito, guiándome en todo cuanto hago y poniendo en mi camino personas que son mi soporte y compañía hasta hoy.

A mi mamita Virginia y a mi papito Juan por su apoyo, su confianza, sus consejos para ser una mejor persona durante toda mi vida. A ellos por todo su esfuerzo y su amor incondicional dedico este gran logro.

A mi hermanita Betsabe por ser esa pequeña personita que me da sin saber su alegría y su amor a mi vida. A Eduardo por regalarme su comprensión, su paciencia y su amor que me motiva a cumplir mis metas.

A todos mis amigos y amigas que me brindaron su tiempo apoyándome cuando más los necesitaba.

Yessica

Dedico en primer lugar a Dios que me da la sabiduría para descubrir lo correcto, la voluntad para elegirlo y la fuerza para hacer que perdure

De igual forma, a mi mamá Rosa y hermanos Ricardo, Maria Elena, Luis Alberto, quienes han sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante buscando siempre el mejor camino.

Rosa Reyna

AGRADECIMIENTOS

Al Omnipotente, quien ha permitido que la sabiduría dirija y guíe nuestros pasos, quien ha iluminado nuestro sendero cuando más oscuro ha estado, el que nos ha dado fortaleza para continuar cuando a punto de caer hemos estado; por ello, con toda la humildad que de nuestro corazón puede emanar, agradecemos a Dios.

Al consejo de investigación de la universidad nacional san Antonio abad del cusco por el auspicio para la realización de esta tesis.

A nuestra asesora MCS. Carla del Carpio Jimenez por su amistad, su ejemplo de profesionalismo, permanente ayuda y guía en la confección y elaboración de este trabajo que es un gran paso en nuestras vidas.

A nuestra co-asesora Dra. Valmi Miriam Luna Flores por su apoyo y amabilidad que la caracteriza.

A nuestros docentes por sus enseñanzas en nuestra formación, compartiendo sus conocimientos y experiencias.

A todas las personas que nos facilitaron el uso y manejo de los equipos e instrumentos de los laboratorios de la UNSAAC.

A todos nuestros amigos que colaboraron incondicionalmente con nosotras en el momento más necesitado.

Los mejores amigos son como las estrellas, aunque no siempre se ven, sabes que están ahí ;MUCHAS GRACIAS A TODOS;

Yessica y Rosa

RESUMEN

Se realizó un estudio cuasi experimental de series cronológicas con repetición del estímulo y diseño con un grupo control y sin pre prueba.

En el presente trabajo se evaluó el efecto citoprotector gástrico mediante la determinación del índice de inhibición ulcerogénica y estudio histopatológico en el modelo experimental de inducción de úlcera gástrica por etanol absoluto, realizadas con ratas albinas machos de la raza Holtzman, agrupadas en 5 grupos experimentales, a los cuales se les administró diferentes tratamientos respetivamente: suero fisiológico (1mL), Omeprazol (20mg/kg), Sucralfato (400mg/kg), Extracto I (600mg/kg) y Extracto II (800 mg/Kg), luego de 1 hora se procedió a administrar etanol absoluto, y después de 1 hora se les extrajo los estómagos para los cortes histológicos y lecturas correspondientes.

El tratamiento con el extracto a la dosis de 800 mg/Kg demostró ser un buen citoprotector gástrico por inhibir la formación de úlceras en un 100 %, similar al patrón Sucralfato (97.66%), a diferencia del patrón Omeprazol que inhibió en un 73.31%, estos datos coincidieron con el pertinente estudio histopatológico.

Así también se evaluó el efecto hepatoprotector mediante el estudio histopatológico y la determinación de transaminasas (GOT y GTP), fosfatasa alcalina y bilirrubinas en el modelo experimental de intoxicación hepática por tetracloruro de carbono, con ratas albinas machos de la raza Holtzman en 6 grupos experimentales: blanco (suero fisiológico 1mL), control (CCl₄ 0.5mL/kg), patrón (Silimarina 100mg/kg) y el extracto a las dosis de 400, 600 y 800 mg/Kg. Cinco días previos al inicio de la intoxicación se administró el suero fisiológico, Silimarina, y las dosis del extracto, y luego durante 5 semanas (2 veces por semana), dos dosis por día: 2 horas antes y 2 horas después de la administración

del tetracloruro de carbono. A la sexta semana se realizó la toma de muestra para las pruebas bioquímicas y se extrajo los hígados para el estudio histopatológico.

En los resultados obtenidos se demostró que el extracto a las dosis de 600 y 800 mg/Kg tiene efecto hepatoprotector porque los niveles de transaminasas (GOT y GTP), fosfatasa alcalina y bilirrubinas se mantuvieron dentro de los parámetros normales, además el estudio histopatológico pudo corroborar estos resultados.

Los resultados fueron sometidos a un análisis estadístico, para lo cual se aplicó el programa estadístico SPSS con un intervalo de confianza del 95 %.

Palabras Clave: Plantago major, efecto citoprotector, efecto hepatoprotector, inhibición ulcerogénica, estudio histopatológico.

ABSTRACT

A study of quasi-experimental time series with stimulus repetition and design with a control group without pre-test.

This study evaluated the gastric cytoprotective effect by determining ulcerogenic index and histopathological study inhibition in an experimental model of gastric ulcer induced by absolute ethanol, performed with male albino rats of Holtzman race, grouped into 5 experimental groups, to which different treatments were given respectable saline (1 mL), omeprazole (20mg/kg), sucralfate (400mg/kg) Extract I (600mg/kg) and Extract II (800 mg / kg) after 1 hours proceeded to administer absolute ethanol, and after 1 hour stomachs were removed for histological sections and corresponding readings.

Treatment with the extract at a dose of 800 mg / kg proved to be a good cytoprotective inhibit gastric ulcer formation by 100%, similar to the pattern Sucralfate (97.66%), unlike the pattern that omeprazole inhibited by 73.31% These data agreed with the relevant histopathology.

So also the hepatoprotective effect was evaluated by histopathology and determination of transaminases (GOT and GTP), alkaline phosphatase and bilirubin in the experimental model of liver toxicity by carbon tetrachloride, male albino rats of Holtzman race in 6 experimental groups white (1 mL saline), control (0.5mL/kg CCl₄), pattern (silymarin 100mg/kg) and the extract at doses of 400, 600 and 800 mg / kg. Five days before the onset of poisoning was administered saline, silymarin, and doses of the extract, and then for 5 weeks (2 times per week), two doses per day: 2 hours before and 2 hours after administration of carbon

tetrachloride. At six weeks was conducted sampling for biochemistry and livers removed for histopathological examination.

The results obtained showed that the extract at doses of 600 and 800 mg / kg hepatoprotective effect because the levels of transaminases (GOT and GTP), alkaline phosphatase and bilirubin were within normal limits, as well as histopathology could corroborate these results.

The results were subjected to statistical analysis, for which we applied the statistical program SPSS with an interval of 95%.

Keywords: Plantago major, cytoprotective, hepatoprotective effect, inhibition ulcerogenic, histopathology.

INTRODUCCION

La práctica del uso de las plantas medicinales en las sociedades desarrolladas se fue perdiendo con el paso de los años, pero en la actualidad se está volviendo a retomar debido a sus propiedades terapéuticas, bajo costo y principalmente su baja toxicidad, lo que no sucede con los fármacos comercializados en nuestro medio, ya que ellos tienen efectos secundarios y poca accesibilidad económica.

En nuestro país, se reconoce que las enfermedades hepáticas y gastrointestinales son algunas de las causas principales de mortalidad y morbilidad de la población, las cuales están directamente relacionadas con diversos factores como el medio ambiente (agua contaminada, alimentos contaminados, etc.), estilo de vida (elevado consumo de alcohol, medicamentos tóxicos), nivel económico y social (costos elevados, educación de la salud), grado de instrucción, etc.

La especie vegetal *Plantago major* "llantén", de amplia distribución geográfica es conocida por sus diversas propiedades curativas, las cuales han sido transmitidas por la medicina tradicional a lo largo de los años. En el Perú existen numerosos reportes etnobotánicos que mencionan sus usos como antiulceroso, gastroprotector, su uso en patologías hepáticas, entre otros usos, pero son pocos los trabajos experimentales que comprueben su actividad y efectividad en forma científica.

El presente trabajo, tiene por objetivo validar científicamente el uso terapéutico del *Plantago major* "llantén" como citoprotector gástrico y hepatoprotector frente a agresiones agudas de dichos órganos, representando una alternativa segura (por su baja toxicidad), de fácil empleo y de mayor accesibilidad para la población.

ÍNDICE

RESUMEN	i
ABSTRACT	iii
INTRODUCCIÓN	v
INDICE	vi

CAPITULO I GENERALIDADES

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	3
1.3. OBJETIVOS	3
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	3
1.3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	3
1.4. JUSTIFICACION	4
1.5. HIPOTESIS	6

CAPITULO II MARCO TEÓRICO

2.1. VISION HISTORICA	7
2.2. ANTECEDENTES	8
2.2.1. ANTECEDENTES ETNOFARMACOLÓGICOS	8
2.2.2. ANTECEDENTES FARMACOLOGICOS	9
2.3. BASES TEORICO CIENTIFICAS	13
2.3.1. IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA DE LA ESPECIE VEGETAL	13
2.3.2. DESCRIPCION DE <i>Plantago major</i> (Llantén)	14
2.3.2.1. NOMBRES VULGARES	14
2.3.2.2. NOMBRE CIENTÍFICO	14
2.3.2.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	14
2.3.2.4. HABITAD Y DISTRIBUCIÓN	16
2.3.2.5. USOS TRADICIONALES	16
2.3.2.6. PRINCIPALES CONSTITUYENTES FITOQUÍMICOS	19
2.3.3. ANATOMÍA Y FISILOGÍA DEL ESTÓMAGO DE LA RATA.	19
2.3.3.1. ANATOMÍA DEL ESTÓMAGO DE LA RATA	19
2.3.3.2. FISILOGÍA DEL ESTÓMAGO DE LA RATA	20
2.3.4. REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA	22
A) FASE CEFÁLICA	22
b) FASE GÁSTRICA	23
c) FASE INTESTINAL	24
2.3.5. BARRERAS DE LA MUCOSA GÁSTRICA	24
2.3.6. PATOLOGÍAS GÁSTRICAS	25

2.3.6.1. ULCERA PÉPTICA	25
2.3.6.2. GASTRITIS	26
2.3.7. TÓXICOS GÁSTRICOS	26
2.3.7.1. PEPSINA	26
2.3.7.2. ÁCIDO CLORHÍDRICO	27
2.3.7.3. <i>Helicobacter pylori</i>	27
2.3.7.4. ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS	28
2.3.7.5. TABACO	28
2.3.7.6. ETANOL	28
A) DOSIS TOXICAS	29
B) METABOLISMO	29
C) MECANISMO DE TOXICIDAD	30
2.3.8. TERAPIA DE LA ENFERMEDAD ÁCIDO PÉPTICA	32
2.3.9. SUCRALFATO	33
2.3.9.1. MECANISMO DE ACCIÓN	33
2.3.9.2. VÍA DE ADMINISTRACIÓN	34
2.3.9.3. FARMACOCINÉTICA	34
2.3.9.4. INDICACIONES	34
2.3.9.5. CONTRAINDICACIONES	34
2.3.9.6. INTERACCIONES	35
2.3.9.7. EFECTOS ADVERSOS	35
2.3.9.8. DOSIS	35
2.3.10. OMEPRAZOL	35
2.3.10.1. MECANISMO DE ACCIÓN	36
2.3.10.2. FARMACOCINÉTICA	36
2.3.10.3. INDICACIONES	37
2.3.10.4. CONTRAINDICACIONES	37
2.3.10.5. INTERACCIONES	38
2.3.10.6. EFECTOS ADVERSOS	38
2.3.10.7. DOSIFICACIÓN	38
2.3.11. ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DEL HÍGADO DE LA RATA	39
2.3.11.1. ANATOMÍA DEL HÍGADO DE LA RATA	39
2.3.11.2. FISIOLÓGÍA DEL HÍGADO.	39
2.3.12. PATOLOGIAS HEPÁTICAS	40
2.3.12.1. LESIONES AGUDAS	41
A) ESTEATOSIS O HÍGADO GRASO	41
B) NECROSIS HEPATOCELULAR	41
C) COLESTASIS CANALICULAR	42
2.3.12.2. LESIONES CRÓNICAS	42
A) CIRROSIS	42
B) TUMORES	42
2.3.13. TÓXICOS HEPÁTICOS	43
2.3.13.1. FÁRMACOS	43
A) PARACETAMOL	43
B) TETRACICLINAS	44
2.3.13.2. METALES	44

2.3.13.3. ETANOL	44
2.3.13.4. TETRACLORURO DE CARBONO	45
A) FUENTES DE INTOXICACIÓN	45
B) TOXICOCINÉTICA	46
C) EFECTOS TÓXICOS	46
D) MECANISMO DE HEPATOTOXICIDAD	46
E) MANIFESTACIONES CLÍNICAS	47
2.3.14. DETERMINACIÓN DEL DAÑO HEPÁTICO	48
2.3.14.1. PRUEBAS BIOQUÍMICAS HEPÁTICAS	48
A) TRANSAMINASAS ALT (TGP) Y AST (TGO)	49
B) FOSFATASA ALCALINA	51
C) BILIRRUBINA	52
2.3.15. AGENTES HEPATOPROTECTORES	53
2.3.16. SILIMARINA	53
A) MECANISMO DE ACCIÓN	54
B) FARMACOCINÉTICA	55
C) TOXICIDAD	55
D) VÍA DE ADMINISTRACIÓN Y DOSIS	55
E) INDICACIONES TERAPÉUTICAS Y PLAN DE ADMINISTRACIÓN	55
2.3.17. PRINCIPIOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN CON ANIMALES	55
GLOSARIO DE TÉRMINOS	59

CAPITULO III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES	64
3.1.1. MATERIAL BOTÁNICO	64
3.1.2. MATERIAL BIOLÓGICO	64
3.1.3. MATERIALES DE VIDRIO	64
3.1.4. MATERIAL DE CAMPO	65
3.1.5. EQUIPO	65
3.1.6. REACTIVOS	66
3.1.6.1. PARA LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD	66
3.1.6.2. PARA LA IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS	67
3.1.6.3. PARA EL EFECTO CITOPROTECTOR GÁSTRICO	67
3.1.6.4. REACTIVOS PARA EL HEPATOPROTECTOR	68
3.1.7. FÁRMACOS UTILIZADOS	68
3.1.8. OTROS	68
3.2. METODOLOGIA	69
3.2.1. NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN	69
3.2.2. TIEMPO DE EJECUCIÓN	69
3.2.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	70
3.2.3.1. PARA EL EFECTO CITOPROTECTOR GASTRICO	70

3.2.3.2. PARA EL EFECTO HEPATOPROTECTOR	71
3.2.4. VARIABLES	72
3.2.4.1. VARIABLES INDEPENDIENTES	72
3.2.4.2. VARIABLES DEPENDIENTES	73
3.2.4.3. VARIABLES INTERVINIENTES	76
3.2.5. CRITERIOS DE SELECCIÓN	76
3.2.5.1. DE LA MUESTRA VEGETAL	76
3.2.5.2. DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	76
3.2.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	77
3.2.7. TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS	78
3.3. PROCEDIMIENTO	79
3.3.1. DE LAS PRUEBAS PRELIMINARES	80
3.3.1.1. MUESTREO Y PREPARACIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL	80
3.3.1.2. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD	81
3.3.1.3. PORCENTAJE DE RENDIMIENTO	81
3.3.1.4. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD	81
3.3.1.5. ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO	82
3.3.1.6. ESTUDIO FARMACOLÓGICO	83
A) DETERMINACIÓN DEL EFECTO CITOPROTECTO	83
B) DETERMINACIÓN DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR	86

CAPITULO IV ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. DE LAS PRUEBAS PRELIMINARES	94
4.1.1. PORCENTAJE DE HUMEDAD	94
4.1.2. PORCENTAJE DE RENDIMIENTO	95
4.1.3. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD	96
4.1.4. ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO	97
4.2. DE LAS PRUEBAS FARAMACOLÓGICAS	98
4.2.1. DEL EFECTO CITOPROTECTOR GÁSTRICO	98
4.2.1.1. Determinación del Índice de Inhibición ulcerogénica	98
4.2.1.2. Determinación microscópica	100
4.2.2. DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR	103
4.2.2.1. Dosaje de TGO	103
4.2.2.2. Dosaje de TGP	107
4.2.2.3. Dosaje de Fosfatasa Alcalina	112
4.2.2.4. Dosaje de Bilirrubinas	116
A) Bilirrubina Total	116
B) Bilirrubina Directa	120
c) Bilirrunina Indirecta	124
4.2.2.5. Análisis de Resultados de Enzimas Hepáticas y Bilirrubinas	128

4.2.2.6. Determinación del Grado de Lesión del Tejido Hepático	131
CONCLUSIONES	133
SUGERENCIAS	135
BIBLIOGRAFÍA	136
ANEXOS	148

CAPITULO I

GENERALIDADES

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las úlceras gastroduodenales son una patología crónica que cursa con brotes por lo que además de tratar éstos hay que implantar terapias de mantenimiento. Estas enfermedades son consecuencia de un desequilibrio entre los mecanismos de defensa de la mucosa gastrointestinal y los factores de agresión de la misma, tales como la secreción ácida y la pepsina. Los factores que desencadenan la aparición de úlceras son los estados de hipertensión gástrica, el consumo de antiinflamatorios no esteroideos o, con menor frecuencia, el de corticoides y la infección por *Helicobacter pylori*. Otros factores de riesgo son el tabaco, el alcohol, el estrés, algunos alimentos, etc. (Butlletí d'Informació Farmacèutica, 1996)

El hígado es el órgano diana que sirve de indicador para las alteraciones metabólicas inducidas por tóxicos. El daño estructural o funcional que se produce por estas sustancias se denomina hepatotoxicidad. El desarrollo industrial y la utilización de nuevos productos químicos permiten conocer cada vez más agentes con capacidad hepatotóxica. Como agentes hepatotóxicos se pueden considerar algunos fármacos, etanol, compuestos químicos (tetracloruro de carbono), metales, entre otros. (Díaz S., 2001)

En la Provincia de Cusco la incidencia de enfermedades gástricas en los años 2008, 2009 y 2010 fueron de 213, 214 y 163 casos respectivamente, encontrándose que en el año 2008 el mayor número de casos pertenecieron a la úlcera péptica de sitio no especificado (101 casos), pero en cuanto a los años 2009 y 2010 fue la úlcera gástrica la que presentó mayor número de casos (88 y 57 casos respectivamente). Y en relación a las enfermedades hepáticas el número de casos que se presentaron en el año 2008 fue 421, en el año 2009 fue 678 y en el año 2010 fue 624, encontrándose que la fibrosis y cirrosis de hígado fueron las que prevalecieron con un mayor número de casos en estos tres años (113, 234 y 186 respectivamente). (Reporte de Incidencias de Enfermedades Gástricas y Hepáticas de la Provincia de Cusco- DIRESA (2007-2010) – Anexo N° 14)

Frente a un diagnóstico de hepatopatía aguda o crónica y/o úlceras gastroduodenales, los pacientes reciben tratamientos farmacológicos pero también deciden utilizar medicina alternativa como tratamiento coadyuvante. (Ochoa C. y Col., 2008)

El *Plantago major* L. "llantén" es una planta herbácea de la familia *Plantaginaceae*, especie introducida de Europa y asilvestrado, el uso de esta planta se ha transmitido por medio de la medicina tradicional, aplicándose a variedad de dolencias en forma de cataplasmas sobre heridas en la piel o infusión de las hojas como antiinflamatorio. Otras propiedades destacables son las de antipirético, diurético, astringente, antiviral, coadyuvante en la disolución de cálculos renales, antihipercolesterolémico y antihemorrágico, además de mostrar actividad antibacteriana. Así mismo se aplica la infusión o decocción en casos de úlceras gastrointestinales, gastritis crónica, afecciones hepáticas, entre otras. (Garro M., Alvarenga V., 2009). Los compuestos que posiblemente son responsables de estos efectos son los taninos y ciertos flavonoides tales como apigenina, luteolina y escutellarina que cuentan con propiedades antioxidantes;

polisacáridos pépticos que han resultado ser efectivos contra úlceras; y alantoína que estimula la regeneración de células epidérmicas. (Blanco B., 2008)

Por su amplio uso en la medicina tradicional se considera importante comprobar las actividades farmacológicas atribuidas, y en consecuencia, que orienten a una adecuada utilización con fines terapéuticos. Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto citoprotector gástrico del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. "llantén" a nivel histopatológico y determinación del porcentaje de la inhibición ulcerogénica mediante el modelo experimental de la úlcera gástrica producida por etanol y efecto protector hepático a nivel bioquímico e histopatológico en un modelo experimental animal con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Presentará el extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (Llantén) efectos citoprotector gástrico y hepatoprotector en animales de experimentación?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar los efectos citoprotector gástrico y hepatoprotector del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (Llantén) en animales de experimentación.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Obtener el extracto seco hidroalcohólico al 70% a partir de las hojas de *Plantago major* L. (Llantén).

- Realizar las pruebas preliminares (porcentaje de humedad, porcentaje de rendimiento, solubilidad y análisis fitoquímico cualitativo) del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (Llantén).
- Evaluar el efecto citoprotector gástrico del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. "Llantén" (Método por inducción de ulcera gástrica por etanol absoluto) mediante: determinación del porcentaje de inhibición ulcerosa de las bandas hemorrágicas presentes en la mucosa gástrica y estudio Histopatológico del estómago de rata.
- Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. "Llantén" (Método de intoxicación con tetracloruro de carbono) mediante: cuantificación de las enzimas hepáticas (transaminasas, fosfatasa alcalina), bilirrubinas y estudio Histopatológico del hígado de rata.

1.4. JUSTIFICACIÓN

La Organización Mundial de la Salud, en su estrategia "Salud para todos en el año 2000", reconoce la necesidad de incorporar a la salud pública los recursos y técnicas de la Medicina Tradicional. (Arellano J., 2001)

La medicina tradicional como parte importante de la cultura de los pueblos, ha sido durante siglos, el único sistema utilizado en la restauración de la salud de las generaciones pasadas, donde las plantas medicinales han cumplido un rol fundamental como medio para curar enfermedades en las personas y son las comunidades quienes han utilizado tradicionalmente las plantas medicinales, para satisfacer sus necesidades básicas, acumulando prácticas ancestrales de selección, manejo y conservación de conocimientos que han transmitido de una

generación a otra. (Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt" de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, 1997)

Para establecer un adecuado enfoque y orientación en la salud individual y colectiva de un país, es necesario conocer el perfil epidemiológico de las enfermedades que la afectan. Este es el caso de las enfermedades digestivas y hepatobiliares, en las que es necesario investigar y conocer la prevalencia, incidencia, factores de riesgo y tendencias a través del tiempo. (Farfán G., Cabezas C., 2002)

En un estudio de Mortalidad por enfermedades digestivas y hepatobiliares en el Perú, 1995-2000, entre las enfermedades digestivas no tumorales, se encontró con mayor tasa de mortalidad a la úlcera gástrica, más en ciudades de la sierra; donde Cusco es una de ellas, prevaleciendo este dato en tres años de este estudio. En las enfermedades hepáticas, la cirrosis hepática ocupa el primer lugar en el período de este estudio y es mayor en los departamentos de la sierra, y se correlacionan con las altas tasas de mortalidad de hepatitis B y carcinoma hepatocelular, donde Cusco es uno de los departamentos que tiene las mayores tasas. (Farfán G., Cabezas C., 2002)

Puesto que es una preocupación encontrar tratamientos adecuados para enfermedades gástricas y para mejorar o revertir el daño hepático inducido por los diferentes productos tóxicos sin producir reacciones adversas y que estén al alcance de la población; más aún si son naturales ya que las hepatopatías y gastropatías están aumentando progresivamente por los malos hábitos alimenticios y la calidad de vida; por todo ello es importante realizar la evaluación del efecto citoprotector gástrico y hepatoprotector de *Plantago major* L. "llantén" que nos permita rescatar y validar los conocimientos de nuestra flora medicinal peruana.

1.5. HIPÓTESIS

El extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (Llantén) presenta un buen efecto citoprotector gástrico, y efecto hepatoprotector en animales de experimentación.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. VISION HISTÓRICA

Plantago major L. pertenece a la familia de las Plantaginaceas con unas doscientas especies, 25 ó 30 de las cuales son de conocimiento doméstico y tienen, por lo general, las mismas cualidades y aplicaciones medicinales. (Caviedes F., 1993)

Originario de Europa y común como maleza. Su nombre "Plantago" deriva de "planta", que significa "pie", y del verbo "ago", que significa "parecido", por lo tanto "parecido a un pie". (<http://www.mijardinsecreto.cl/pdf/llanten.pdf>)

El uso del llantén como planta medicinal es muy antiguo, Dioscorides en el siglo XVII indica que *Plantago major* L. en forma de emplasto se aplica en todas las llagas rebeldes, en las que tienen una afinidad con la lepra. En el siglo XVI es señalado por el Códice Florentino para curar las inflamaciones de la garganta así como las paperas, siendo además utilizado como alimento. En el siglo XVIII Juan de Esteyneffer lo describe como antidiarreico, contra quemaduras, contusiones y úlcera de boca, agregándose para el siglo XIX su uso como sedante para dolores, ya en el siglo XX se descubre su efecto como astringente. (Ramírez A. y Col.)

2.2. ANTECEDENTES

La importancia de las plantas medicinales, en el proceso de obtención de nuevos medicamentos, es un hecho incontrovertible, aceptado por la ciencia médica hace más de 150 años. Un número importante de los fármacos utilizados por la medicina contemporánea son obtenidos de vegetales o de subproductos de éstos y sometidos a diversos niveles de transformación química. El siglo XX nos ha enseñado que dichos recursos naturales, entran en el contexto de la llamada "medicina tradicional", cumpliendo un rol social, por estar vinculados a diversos aspectos de la cultura. (Gómez A. y Col., 2002)

2.2.1. ANTECEDENTES ETNOFARMACOLÓGICOS

- **Roersch Carlos “PLANTAS MEDICINALES DEL SURANDINO DEL PERU”, 1988.**

Publicación en el que indica que *Plantago major* L. (Llantén) presenta propiedades hepatoprotectoras, para lo cual se toma el cocimiento del llantén y perejil. Otro uso popular es para el tratamiento de úlceras estomacales.

- **Kossmann I. y Vicente C. “SALUD Y PLANTAS MEDICINALES”, 1992.**

Publicación en la cual hace mención que las hojas de *Plantago major* L. (Llantén) preparadas en infusión se emplea como antiulceroso.

- **Caviedes Fernando “APUNTES DE MEDICINA TRADICIONAL” La racionalización de lo irracional, 1993.**

Manifiesta sobre *Plantago major* L. la acción que ejerce sobre el tubo digestivo que ha sido estudiada en el laboratorio por Obolentseva y Khadzhai, quienes prepararon una pectina del Llantén “plantaglúcido”. Con

este preparado lograron evitar la formación experimental de úlceras gástricas en la rata, dando a los animales una protección de 20 a 1.

- **XIII SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINALES DE BRASIL, 20 -23 DE SETIEMBRE (1994), DE FORTALEZA, BRASIL.**

Estudios realizados por la Escuela Paulista de Medicina y presentados en el XIII Simposio de Plantas Medicinales de Brasil concluyen que: el extracto acuoso de las Hojas de *Plantago major* tuvo actividad antisecretora y antiulcerogénica en animales de experimentación y es comprobado en diferentes modelos experimentales, confirmando su uso en Medicina Popular en disturbios del tracto gastrointestinal.

2.2.2. ANTECEDENTES FARMACOLÓGICOS

- **Medina Gonzales Andres D., García Álvarez Ricardo J., Ramos Hernández Leonardo “Efecto Antihepatotóxico de la Cúrcuma Longa” Instituto Superior de Ciencias Médicas Santiago de Cuba.**

Se comprobó experimentalmente en ratas Wistar la utilidad de la cúrcuma longa en la atenuación del efecto hepatotóxico provocado por el tetracloruro de carbono, que origina un incremento del nivel de peróxidos lipídicos y las transaminasas sanguíneas.

- **Alvarez Amezcua C. “Modificación del curso de la cirrosis experimental con extractos totales de Romero (*Rosmarinus officinalis*)”- Universidad de Colima: Facultad de Medicina, 1994.**

Con el propósito de esclarecer el efecto de *Rosmarinus officinalis* sobre la cirrosis hepática inducida con CCL₄, se midieron diversos indicadores de daño hepático. Los resultados obtenidos al administrar como terapia los extractos totales de romero mostraron un incremento en la concentración de DNA, lo que sugiere la regeneración celular; la medición de la actividad,

el proceso de biotransformación hepática dañado en la cirrosis se recuperó al recibir el tratamiento con romero.

- **García González M., Coto Morales T., Soto Rodríguez G., Pazos L. “TOXICIDAD SUB-CRÓNICA Y PRUEBA DE IRRITABILIDAD OCULAR DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE *Plantago major* L. (PLANTAGINACEAE)”- REVISTA DE BIOLOGIA TROPICAL, 2003.**

El material botánico fue recolectado por el Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio), 1.039 kg de hojas frescas congeladas, se licuaron en 1.3 L de agua destilada, se llevó a 80°C por espacio de 30 min, se filtró a través de gasa y se obtuvo 20.93 g de liofilizado de color ceniza claro. Se preparó una solución de 10 g de liofilizado disuelto en 50 ml de agua destilada para un preparado con una concentración de 2000 mg/ml.

El estudio de Prueba de toxicidad sub-crónica por vía oral se realizó con 20 ratones albinos de la cepa NGP, machos, distribuidos en dos grupos de diez ratones, el promedio de peso corporal fue de 20.15 ± 0.059 g para el grupo que recibió el tratamiento de 2000 mg/kg y de 21.62 ± 0.03 g para el grupo que recibió 0.5 ml de agua destilada como control. Los tratamientos fueron administrados diariamente durante 5 días consecutivos por semana durante un período total de 40 días. No se presentó mortalidad con la dosis administrada por vía oral, sin embargo los animales presentaron disminución del reflejo de enderezamiento, de la actividad prensil anterior y posterior y de la reacción de alarma.

Para la prueba de irritabilidad ocular se utilizaron 5 conejos de la cepa New Zeland, machos con peso promedio de 3.640 Kg. Se instiló el ojo derecho con 200 µl del preparado acuoso (100 mg/ml) y el ojo izquierdo con 200 µl de agua destilada. La instilación se realizó diariamente por un periodo de 5

días consecutivos, no se observó ninguna manifestación de irritabilidad ocular en el ojo de los conejos.

- **Peláez Pulce Pedro Segundo y Herencia Chiclayo Dagy Fressia “DETERMINACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE UNA CREMA DE *Plantago major* L. (LLANTÉN) EN *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* Y *Bacillus subtilis*”- Revista Fitofarmacológica Internacional 2006.**

Las hojas de *Plantago major* L. se obtuvieron en forma aleatoria de las localidades de San Ignacio y Jaén, esto debido a que en la Región no se cuenta con un herbario institucional. Se recogieron y secaron inmediatamente a 40°C, a un polvo moderado fino (800 g). La crema de *Plantago major* L. se obtuvo de 15 mL de un extracto alcohólico producido con polvo de hojas secas de la planta; al que se adicionó a 100 g de ungüento hidrófilo, hasta que la concentración de la crema fue de 20,0 mg de sólidos por cada gramo de ungüento hidrófilo.

La actividad antibacteriana se demostró mediante el método de difusión con discos en Agar Nutritivo y al observar los resultados se apreció que la crema de llantén tiene efecto inhibitorio sobre los microorganismos en estudio (*Pseudomona aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*), resultando ligeramente menor a Sulfadiazina de Plata 1%, Gentamicina 0,1% y Tetraciclina 1%, fármacos utilizados para la evaluación del efecto. Esta diferencia no es estadísticamente significativa, lo que permite confirmar que la crema de llantén, tiene actividad antibacteriana in vitro en porcentajes que oscilan entre 91.7% y 99.4%, valores muy próximos a lo evidenciado por los antibióticos en cuestión (100%). Esto comprueba que la actividad farmacológica de la crema se debe a los principios activos presentes en el extracto de las hojas.

- **Blanco Bárbara, Saborío Adriana, Garro Giovanni. “DESCRIPCIÓN ANATÓMICA, PROPIEDADES MEDICINALES Y USO POTENCIAL DE *Plantago major* L. (LLANTÉN MAYOR)” - TECNOLOGÍA EN MARCHA, 2008.**

La actividad *Plantago major* L. no se amerita a un solo compuesto, los efectos son producto de la acción en conjunto de distintas sustancias y de su regulación mutua. Las investigaciones han revelado la presencia de mucílagos, pectinas, flavonoides, taninos, un glucósido cromogénico iridoide denominado aucubósido (aucubina) y otro glucósido llamado catapol. Tanto las hojas como las flores y el tallo poseen el glucósido aucubina.

La aucubigemina es el principio activo de mayor relevancia; que por hidrólisis se forma un dialdehído que actúa como bactericida, ya que desnaturaliza las proteínas de ciertos microorganismos. También cuenta con sustancias como: ácido salicílico, sales minerales de potasio y zinc. Además, rutina, alcaloides (noscapida), esencias, resinas, esteroides, bases aminadas y compuestos azufrados. Igualmente, posee ácidos-fenoles y una lactona (loliolida) o digiprolactana, entre otros.

Las hojas contienen sustancias con propiedades antiinflamatorias, algunas ya mencionadas, como plantamajosida, baicaleína, hispidulina, aucubina, ácido ursólico, ácido oleanólico y carotenos. Del mismo modo, cuenta con diversos flavonoides, tales como apigenina, luteolina y escutellarina, ciertos flavonoides y el ácido caféico cuentan con propiedades antioxidantes. Los polisacáridos pépticos han resultado ser efectivos contra úlceras y por sus actividades inmunoestimuladoras. La propiedad de cicatrización se le atribuye a su riqueza en taninos como a su contenido en alantoína.

Entre los múltiples usos de esta planta en el campo de la salud humana, una infusión de sus hojas inhibe en un 82 a 95% la acidez de la secreción gástrica.

En el análisis químico mediante cromatografía en capa fina de la muestra vegetales de *Plantago major* L., una vez corrida y revelada la placa cromatográfica, se midió el Rf de las sustancias observadas para, de esta manera, confirmar que los metabolitos aucubina y catapol se encontraban en el extracto. El Rf de la aucubina se encuentra en un ámbito de 0,45 a 0,75, ya que éste es característico de los glucósidos iridoides; por otro lado, el Rf del catapol es de 0,25 aproximadamente. Utilizando esto como patrón, se obtuvo un resultado positivo ante la presencia de ambos glucósidos.

2.3. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS

2.3.1. IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA DE LA ESPECIE VEGETAL

Corresponde a la siguiente posición taxonómica:

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Asteridae
Orden	: Plantaginales
Familia	: Plantaginaceae
Género	: <i>Plantago</i>
Especie	: <i>Plantago major</i> L.

Fuente: Herbario Vargas. (Anexo N°01)

2.3.2. DESCRIPCIÓN DE *Plantago major* L. (Llantén)

2.3.2.1. NOMBRES VULGARES

Llantai, llantén (Cusco, Apurímac, Puno), llantén macho, Llantén mayor, chiraya, llantén mamacho, yantén, siete venas, caá-yuquy (en Guaraní), chirajyu (en quechua), sakkarara (en aymará), folha santa, tanchagem (Brasil), yantin (v. shipibo-conibo).

<http://www.maca-peruana.com/llanten.htm>

2.3.2.2. NOMBRE CIENTÍFICO

Plantago major L.

2.3.2.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA



Figura N°01: *Plantago major* L. (Llantén)

Fuente: http://www.ecoaldea.com/plmd/llanten_may.htm

Es una planta herbácea, pequeña, perenne, no tiene tallo siendo este reemplazado por un corto rizoma vertical, no mayor de 6 a 8 mm.

La raíz está constituida por una abundante cabellera de largas pilosidades que tiene un sabor entre salobre y dulcete. Del rizoma salen directamente las hojas anchas, planas, ovales o ligeramente lanceoladas, a veces irregularmente dentadas en su región basal, de 6 a 15 cm de largo y unos 5 a 8 cm de ancho. Salen alrededor del centro, formando una roseta y, cuando son jóvenes, adoptan una posición casi vertical que progresivamente se hace horizontal conforme crecen y van madurando hasta quedar pegadas al suelo.

Su peciolo es largo y acanalado. No tiene olor y tienen un sabor ligeramente amargo, acre y astringente. Tienen 3 a 11 nervaduras divergentes que salen de la base y que son muy prominentes en la cara inferior.

Las flores son pequeñas, agrupadas estrechamente en espigas erectas que pueden alcanzar hasta 30 a 40 cm. de largo. Son hermafroditas, de color verdoso, blanquecino o pajizo y de unos 2 mm de largo.

El cáliz tiene cuatro sépalos puntiagudos y la corola es tubular o campaniforme terminando en cuatro pétalos. Tiene también cuatro estambres largos con antenas de color vinoso y un ovario con dos celdas que contienen cuatro a ocho óvulos cada una.

El fruto es una capsula elipsoide de 2 a 4 mm de largo que se abre transversalmente como un copón (pixidio) dejando escapar las semillas muy pequeñas, redondas o fusiformes y oscuras. Estas semillas contienen una alta proporción de mucilagos. (Caviedes F., 1993)

2.3.2.4. HABITAD Y DISTRIBUCIÓN

Cosmopolita. Introducida de Europa y asilvestrado. (Brack E., 1999)

2.3.2.5. USOS TRADICIONALES

CUADRO N°01: Usos Tradicionales de *Plantago major* L. (Llantén)

ENFERMEDAD	MODO DE APLICACIÓN
Amigdalitis	Hacer gárgaras con el jugo
Dolor de oído	Jugo fresco
Heridas	Lavar con cocimiento Emplasto de las hojas
Colerina	Mate
Golpes internos	Mate
Inflamación del hígado	jugo de las hojas
Hinchazón de los pies	Mate Lavados con el mate
Sarna	Lavar con el cocimiento de las hojas
Inflamación después del parto	Tomar cocimiento de: llantén, lambrakaña, qoa-qoa, asnaq verbena de flores blancas y pampa anís. Tomar jugo de: llantén, pampa qhana, llampu, qhana y kiska qhana
Hemorragia después del parto	Tomar cocimiento de: llantén, lambrakaña, qoa-qoa, asnaq verbena de flores blancas y pampa anís.
Cálculos biliares	Tomar jugo de: yawar chonqa, maicha, apiña kisa, chiri-chiri, chillka, hierba de cáncer y llantén en chicha de jora.
Heridas profundas infectadas	Emplasto de cascarilla molida y llantén molido.

Sigue...

Viene...

Inflamación (dolor de garganta)	Hacer gárgaras con mate de: chilli-chilli, llantén, coca y sal. Hacer gárgaras con mate de: nabo, llantén, limón y agua oxigenada Hacer toques en la garganta(interiormente) con mate de nabo, llantén, limón y agua oxigenada Tomar cocimiento de llantén y hincho-hincho. Tomar mate de: rata-rata, qeto-qeto, llantén agregando huevo batido
Bronconeumonía	Tomar cocimiento de: layo, mostaza, verbena blanca, oqoruru, llantén. Tomar mate de: espina de sancayo, ayamaycha, grama, llantén, qello tika y ortiga.
Para orinar con sangre	Tomar cocimiento de: bolsa de pastor, manzanilla, cola de caballo, salvia, llantén, qeto-qeto, wuira-wuira, santa maria, qhanachu, pinco-pinco agregando limón.
Diarrea	Tomar cocimiento de: hinojo, salvia, menta, pata-chillka o manakpaqui, palma real, llantén, cola de caballo, yuyo, muña, paico, malva, santa maria, altamisa, qata con raíz.
Tuberculosis	Tomar jugo de llantén y ortiga
Tos, uju o chiri pulmon.	Tomar mezcla de clara de huevo con las flores molidas de: aleluya, panti-panti, puro-puro, turpa, yawar chonqa, pilli, llantén y anís.
Tos convulsiva	Emplasto de matico, chiri-chiri, eucalipto, pu-pusa, sasawi y nabo (todo molido), mezclado con clara de huevo, chanchaca y mate de llantén. Tomar mate de llantén y manzanilla con wira kuru quemado y molido.
Úlceras estomacales	Mate de llantén y qeto-qeto

Sigue...

Viene...

Molestia durante el embarazo	Mate del jugo de las hojas molidas.
Ojos niños recién nacidos	Lavar con mate de llantén.
Temperatura después del parto	Mate de llantén con limón.
Para evitar el sangrado y componer el cuerpo después del parto	Mate de: cola de caballo, llantén, llampu qhana, walwa blanca, ortiga, hierba buena, hayaq pilli, chinchirkuma, ñuñumia blanca.
Chapetona	Lavar con cocimiento de llantén y hierba de cáncer. Espolvorear con llantén quemado.
Herpes	Lavar con cocimiento de llantén
Bronquitis	Tomar mate de: llantén, nabo silvestre y limón (para bajar la fiebre). Tomar jarabes de llantén (con miel de abeja). Tomar jugo de llantén (con miel de abeja).
Bajar la fiebre	Mate de: nabo silvestre, llantén y limón.
Inflamación de la matriz	Emplasto de: rumi-unku, salvia, marku, alhucema e infundia de gallina, luego se toma mate de llantén y limón.
Malestar del cuerpo	Cocimiento de: ajenjo, llantén y sebo de gallina.
Rasca-rasca	Bañarse el cuerpo con cocimiento de: cola de caballo, llantén y jabón carbólico. Luego pasar con limón y finalmente aplicar polvo de la flor de nabo seco.
Vías urinarias	Tomar cocimiento. Tomar cocimiento de cola de caballo, grama blanca, llantén, cebada tostada, canela, pelo de choclo, altea.
Hígado	Tomar cocimiento de llantén y perejil.

Fuente: Roersch, Van Der Hoogte, 1988.

2.3.2.6. PRINCIPALES CONSTITUYENTES FITOQUÍMICOS

Dentro de sus componentes presenta: heterósidos cromogénicos: aucubósido o aucubina; cumarina: esculetina; mono-terpenos: geniposio metiltósido; glucósido iridoide: asperulósido, aucubósido, catalpol, aucubigemina; alcaloides: plantagonina, noscapina y colina; mucílago: arabinogalactana, ramnogalacturonana, glucomanana, caroteno; enzimas (diastasas, invertasas, emulsina, labenzima); flavonoides: apigenol, luteolósido, etc alrededor de 15 flavonoides más; ácido salicílico; pectinas: plantaglúcido ; lactosas; taninos, ácidos fenoles como: ácido ferúlico, ácido pcumárinico, ácido fumárico, sirúrgico, vanílico, p-hidroxibenzoico, gentísico, benzoico, cinámico, ursólico, clorogénico, neoclorogénico, saponinas , vitaminas A y C en cantidades apreciables, Vitamina K, citocromo C, citrato de potasio, Si, Zn, politerpenos, lignanos, benzenoides, lípidos, esteroides, quinoides. (http://www.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2002/Art8_Vol2_N1-2.pdf)

2.3.3. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL ESTÓMAGO DE LA RATA

2.3.3.1. ANATOMÍA DEL ESTÓMAGO DE LA RATA

Se ubica por debajo de los lóbulos del hígado y a la izquierda. Tiene forma de C y presenta dos curvaturas, una mayor y una menor donde desemboca el esófago en el orificio llamado cardias. El estómago es un órgano hueco, su pared está constituida por cuatro capas, siendo desde el exterior al interior, la capa serosa, muscular, submucosa y mucosa.

Hacia abajo el estómago se comunica con el duodeno por un orificio o esfínter denominado píloro. Por debajo del estómago, sobre la pared posterior del abdomen se ubica el bazo que tiene forma de lengüeta alargada y es de color rojo oscuro. (Gunningham J., 2005)

Entre las diferencias del tracto digestivo de la rata en relación con especies no roedoras, se tiene que el esófago, que se encuentra cubierto de epitelio escamoso estratificado, entra al estómago por el centro de la curvatura menor en lugar de entrar por la parte superior de la misma. El estómago tiene dos partes, una porción glandular y otra no glandular con una pared muy delgada, siendo esta parte recubierta, al igual que el esófago, por epitelio escamoso estratificado. (Quezada A.1997)

2.3.3.2. FISIOLÓGÍA DEL ESTÓMAGO DE LA RATA

Las principales funciones del sector glandular son la secreción de pepsina y ácido clorhídrico necesario para la digestión de los alimentos. El sector no glandular tiene funciones mecánicas generando contracciones (ayuda a triturar el alimento), en esta se produce una pequeña cantidad de procesos fermentativos. La zona glandular se puede dividir en tres regiones: la mucosa del cardias, la mucosa parietal y la mucosa pilórica. Estas regiones presentan glándulas de estructura similar, pero diferentes tipos de secreciones. (Gunningham J., 2005)

Gran parte de la superficie del estómago, está recubierta de células mucosas superficiales que producen un moco espeso y pegajoso que desempeñan un papel importante en la protección del epitelio del estómago frente a las condiciones ácidas y de molturación presentes en la luz del órgano.

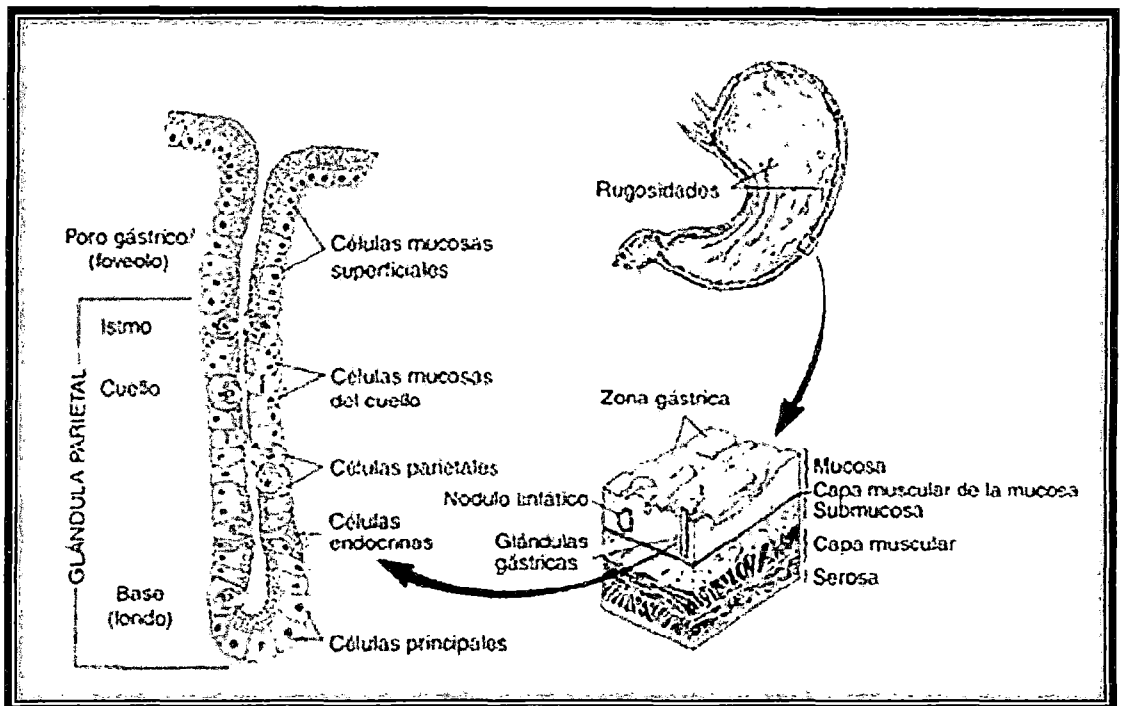


Figura N° 02: Capas y Células del Estómago de la Rata.

Fuente: Gunningham J., 2005.

Cada región de la mucosa gástrica contiene glándulas formadas por tipos celulares característicos. Las de la zona parietal poseen células parietales que se localizan en el cuello o área proximal de la glándula, y su función es la secreción del ácido clorhídrico. Distribuidas también en el cuello glandular y entre las células parietales se disponen las células mucosas del cuello; estas secretan un moco muy diluido y menos viscoso que las células mucosas superficiales. Además de la función secretora, parece ser la célula madre de la mucosa gástrica, ya que son las únicas células de las estriaciones del estómago capaces de dividirse diferenciándose en cualquiera de los diferentes tipos de células maduras de la superficie o del interior glandular. En la base de las glándulas gástricas existe un tercer tipo celular. Las células principales, estas secretan pepsinógeno, precursor de la pepsina. Las glándulas de la mucosa del cardias y del píloro, tienen una estructura similar a las parietales aunque con diferentes tipos celulares. Las

de la zona del cardias secretan solo un moco alcalino, cuya probable función es la protección de la mucosa adyacente del esófago de las secreciones ácidas del estómago. Las glándulas del píloro no poseen células parietales, pero contienen células G productoras de gastrina. También, y de acuerdo con todas las referencias que se poseen, las glándulas pilóricas secretan pepsinógeno. (Gunningham, J. 2009)

2.3.4. REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA

La secreción de ácido clorhídrico y de pepsinógeno por parte de las glándulas de la mucosa gástrica está regulada por mecanismos nerviosos y endocrinos. Se considera que normalmente la secreción gástrica ocurre en tres fases:

A) Fase cefálica

Esta fase resulta de la presentación del alimento (visión, olor y sabor) donde se originan señales nerviosas en la corteza cerebral o en los centros del apetito de la amígdala o del hipocampo llegan hasta el estómago a través de fibras aferentes. Las fibras parasimpáticas posganglionares del plexo mientérico liberan acetilcolina y estimulan la producción de las glándulas gástricas. También provoca la secreción de gastrina por las células G de las glándulas antrales. La gastrina llega a las glándulas gástricas por vía circulatoria y estimula para que secreten ácido y pepsinógeno. Además, tanto la actividad vagal como la gastrina estimulan la liberación de histamina por parte de las células cebadas. La histamina actúa sobre las células parietales a través de los receptores H₂ para estimular la secreción de iones hidrogeno. Por tanto, la acetilcolina, la gastrina y la histamina aumentan toda la secreción del jugo gástrico.

B) Fase gástrica

La llegada de sangre al estómago estimula la fase gástrica de la producción de ácido, de pepsinógeno y de moco, que supone más del 60% de la secreción gástrica total. Los dos principales desencadenantes son la distensión de la pared gástrica y del contenido químico del alimento.

La distensión del estómago activa los mecanorreceptores e inicia tanto reflejos mientéricos locales como reflejos vagovagales. Ambos conducen a la secreción de acetilcolina, que estimula la secreción de jugo gástrico por parte de las células secretoras del estómago.

Además de su acción colinérgica directa, el vago estimula la producción de gastrina por las células G en respuesta a la distensión del estómago. La gastrina es un potente estímulo para la secreción de ácido por parte de las células parietales, y también aumenta la liberación de enzimas y de moco por parte de las glándulas gástricas. Aunque las proteínas intactas no tienen efecto sobre la secreción gástrica, los péptidos y los aminoácidos libres estimulan la secreción de jugo gástrico a través de una acción directa sobre las células G.

Cuando el pH del contenido gástrico cae hasta valores comprendidos entre 2 y 3, se inhibe la secreción de gastrina. La inhibición de la secreción de gastrina está mediada por un aumento de la secreción de somatostatina por parte de las células D de la mucosa gástrica. De este modo, la secreción ácida gástrica se autolimita y la fase gástrica suele durar solo alrededor de una hora.

C) Fase intestinal

Una pequeña porción (aproximadamente el 5%) de la secreción gástrica total en respuesta al alimento tiene lugar a medida que el alimento parcialmente digerido comienza a entrar en el duodeno.

La mucosa duodenal segrega secretina en respuesta al ácido. Esta secretina alcanza el estómago a través del torrente circulatorio e inhibe la liberación de gastrina. También se segregan colecistocinina (CCK) y el péptido inhibidor gástrico en respuesta de presencia de productos de digestión, ambas inhiben la liberación de gastrina y ácido gástrico. (Pocok-Richards, 2005)

2.3.5. BARRERAS DE LA MUCOSA GÁSTRICA

La barrera mucosa gástrica mantiene la integridad del epitelio superficial. Desde un punto de vista conceptual y didáctico los mecanismos son:

CUADRO N°02: Mecanismos Protectores de la Mucosa Gástrica

Capa de Moco	Protege las células epiteliales del ácido y la pepsina.
Secreción de Bicarbonato	Da lugar a una disminución de la acidez.
Flujo Sanguíneo	Mantiene la integridad de la mucosa, aportando oxígeno, nutrientes y removiendo sustancias nocivas.
Factor de Crecimiento Epidérmico	Estimula la secreción de prostaglandinas que inhiben la secreción ácida y aumentando la producción de bicarbonato y moco, y mejorando el flujo sanguíneo en la mucosa.

Fuente: Ferrer L. y Col., 2003.

La barrera moco-bicarbonato es la primera línea de defensa de la mucosa gástrica y duodenal y establece un gradiente de pH con valores de 2 a 7

desde la luz gástrica a la superficie epitelial. Cualquier agente que altere significativamente esta capa protectora es potencialmente gastrolesivo ya que la pérdida de la integridad de la capa moco-bicarbonato facilita el paso de los hidrogeniones desde la luz a la mucosa, y la difusión de los iones sodio y potasio en sentido inverso, lesionando el epitelio.

El flujo sanguíneo es importante en la preservación de la integridad vascular gástrica y el subsiguiente mantenimiento de la circulación sanguínea es uno de los elementos clave de la citoprotección. Probablemente las prostaglandinas pueden ayudar a mantener el flujo sanguíneo de la mucosa al preservar la microcirculación endotelial gástrica.

El equilibrio entre pérdida y renovación celular es otro importante factor de defensa de la mucosa. Se ha comprobado que la exposición de la mucosa a agentes nocivos como el etanol, el ácido o los AINE aumenta la pérdida de DNA del estómago, y que el tratamiento preventivo de la mucosa con prostaglandinas evita esta pérdida. (Carretero M., 2001)

2.3.6. PATOLOGÍAS GÁSTRICAS

2.3.6.1. Úlcera péptica

Los dos factores más importantes que atacan la barrera de la mucosa gástrica y así provocan la úlcera, son *Helicobacter pylori* y los antiinflamatorios no esteroideos. La úlcera péptica es un grupo de desórdenes crónicos que se caracterizan por la aparición de lesiones ulcerosas en la mucosa del tracto superior gastrointestinal. Los sitios más comunes para su aparición son el duodeno y el estómago. Antes se pensaba que el ácido era el factor más importante en el desarrollo de las úlceras pépticas. Hoy se reconoce que aunque el ácido debe estar presente para la aparición de las úlceras, generalmente no aparecen en ausencia de factores que atacan la barrera de la mucosa gástrica. (Pocok-Richards, 2005)

2.3.6.2. Gastritis

Los agentes más a menudo responsables de las erosiones de la gastritis aguda son el alcohol, y los antiinflamatorios no esteroideos.

La gastritis se define simplemente como una inflamación de la mucosa gástrica, se clasifica en erosiva aguda y crónica no erosiva. La gastritis erosiva aguda es un proceso inflamatorio de corta duración que se caracteriza por erosiones o ulceraciones superficiales del estómago. Por su parte, la gastritis crónica no erosiva se clasifica a su vez en dos tipos, cada uno de ellos depende de su localización anatómica dentro del estómago. El tipo A es una enfermedad autoinmune caracterizado por la inflamación crónica de la mucosa secretora de ácido del fundus y del cuerpo del estómago con evolución a la atrofia gástrica; mientras que el tipo B afecta a las células epiteliales secretoras del mucus que tapizan el antro del estómago. Se cree que la gastritis de tipo B es generalmente causada por *H. pylori*. (Pocok-Richards, 2005)

2.3.7. TÓXICOS GÁSTRICOS

CUADRO N° 03: Agresores o Citotóxicos Gástricos

AGRESORES O CITOTÓXICOS	
- Pepsina	- Antiinflamatorios no Esteroideos
- Ácido Clorhídrico	- Tabaco
- <i>H. pylori</i>	- Etanol

Fuente: Ferrer L. y Col., 2003.

2.3.7.1. Pepsina

Se secreta a nivel de las células principales del estómago en forma inactiva, estando formada por siete enzimas que se agrupan en los denominados pepsinógenos I y II precisándose para su activación la presencia de un pH ácido, siendo el pH óptimo para su actuación 1,8 y no existe actividad

cuando el pH es superior a 3,5. La pepsina da lugar a la proteólisis de las células y tejidos dañados por otras noxas, no siendo responsable de la lesión inicial. Cada vez se está otorgando un papel más importante a la pepsina en la génesis de la enfermedad ulcerosa péptica. (Ferrer L. y Col., 2003.)

2.3.7.2. Ácido Clorhídrico

La presencia de ácido es un requisito imprescindible para poder desarrollar una úlcera péptica. El ácido es producido a nivel de las células parietales del estómago a una concentración constante de 160 mMol por acción de una ATPasa. Esta secreción de ácido clorhídrico da lugar a altas concentraciones de hidrogeniones a nivel intraluminal, alcanzándose hasta pH 1. Estos hidrogeniones atraviesan el moco produciéndose un gradiente en la concentración de los mismos entre la luz gástrica y la superficie celular. Esta capacidad de retrodifusión de los hidrogeniones está aumentada en determinadas situaciones, como cuando la concentración luminal de hidrogeniones es muy alta o cuando existen alteraciones a nivel de flujo sanguíneo mucoso. Experimentalmente se ha comprobado que cuando el pH a nivel de la lámina propia es inferior a 6,5 se produce ulceración de la mucosa. (Ferrer L. y Col., 2003.)

2.3.7.3. *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori es un bacilo espiral flagelado Gram (-) que se adquiere principalmente en la infancia, productor de ureasa que se encuentra en el estómago de cerca del 90 - 95% de los pacientes con úlcera duodenal y del 60-80% de aquellos con úlceras gástricas, además la infección por este germen es la más frecuente a escala mundial. Este microorganismo coloniza preferentemente el antro gástrico, donde provoca una disminución de la concentración de somatostatina y una disminución de la población de células D (productoras de somatostatina). Por este motivo, se pierde el efecto

inhibitorio sobre la gastrina, con la consiguiente hipergastrinemia que origina un aumento de células parietales y un aumento de la secreción ácida. (Ferrer L. y Col., 2003.)

2.3.7.4. Antiinflamatorios no esteroideos

Las lesiones originadas en la mucosa gastroduodenal se dan al inhibir la síntesis de prostaglandinas. Las prostaglandinas tienen un efecto citoprotector de la mucosa gástrica ya que aumentan, la secreción de mucus, la secreción de bicarbonato, el flujo sanguíneo y la restauración epitelial. Por tanto, su inhibición altera los mecanismos de protección y permite que los ácidos biliares, la pepsina y el ácido clorhídrico ataquen a la mucosa. Este tipo de lesiones se establecen a consecuencia de la administración de estos fármacos incluso a bajas dosis, a corto, medio y largo plazo, pudiéndose presentar éstas, con diferentes intensidades estando en relación con la composición química del fármaco y las condiciones específicas de cada paciente. (Ferrer L. y Col., 2003)

2.3.7.5. Tabaco

El tabaco retrasa la cicatrización de las úlceras, aumenta las recidivas en los tratados y el riesgo de complicaciones. Parece que favorece la aparición de úlceras en sujetos con infección por *H. pylori*, dejando de ser un factor de riesgo en aquellos casos en los que se logra la erradicación del microorganismo. (http://www.lasalud.com/pacientes/ulcera_peptica.htm)

2.3.7.6. Etanol

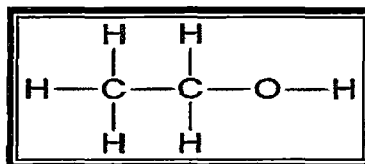


Figura N°03: Estructura Química del Etanol

Fuente: <http://es.wikipedia.org/wiki/Etanol>

El alcohol etílico o etanol es un líquido aromático y combustible que procede de la fermentación de sustancias azucaradas, del almidón y de la celulosa. El alcohol etílico puede dar lugar a la intoxicación común, accidental o voluntaria, y a una intoxicación profesional. (Gisbert Calabuig J.)

A) Dosis tóxicas

Las dosis tóxicas del alcohol etílico son variables con las circunstancias individuales y más especialmente, con el acostumbramiento del sujeto.

La ingestión de 1.20 a 1.50 g/Kg de peso produce embriaguez en las tres cuartas partes de los sujetos. Superadas estas cifras, la embriaguez es la regla, pero si la cantidad ingerida llega a 5-6 g/Kg de peso, la intoxicación puede ser mortal.

B) Metabolismo

- ❖ **Absorción:** La mayoría de las intoxicaciones por alcohol se producen por vía digestiva. El alcohol se absorbe en un 20 a 30% en el estómago y el resto en el intestino delgado (duodeno principalmente). Todo el alcohol que se ingiere es absorbido, no encontrándose nada del mismo en las heces.

El mecanismo de absorción se realiza por difusión pasiva, todo el alcohol ingerido pasa a la sangre entre 30 y 60 minutos después de la ingestión; aunque en algunas circunstancias puede retrasarse hasta un máximo de tres horas.

Cuando el estómago está vacío, la absorción es mayor, al aumentar la superficie de mucosa gástrica disponible; por el contrario, la presencia de alimentos en el estómago, en especial de proteínas, retrasa la absorción. El grado alcohólico favorece la absorción.

El alcohol puede penetrar fácilmente por vía pulmonar y atravesar la membrana alveolo-capilar por difusión. Esta vía tiene interés en las

intoxicaciones profesionales. Vía cutánea, teóricamente el alcohol puede penetrar por esta vía. Se trata sin embargo, de una posibilidad excepcional.

- ❖ **Distribución:** La adsorción dependerá de modo principal, del número de libaciones. En el supuesto de una única libación a estómago vacío, a los 60 minutos todo el alcohol habrá pasado a la sangre. Una vez que el alcohol llega a la sangre, difunde a los tejidos en función a la riqueza en agua de los líquidos intra y extracelulares. Llega un momento en que se produce un punto de equilibrio, donde el alcohol ya empezó a catabolizarse. El 95% del alcohol se metaboliza por oxidación y un 5% se elimina sin modificarse por distintos aparatos y órganos.
- ❖ **Excreción:** Por vía pulmonar se elimina, gracias a la volatilidad del alcohol, sólo se elimina el 2-3 % del alcohol ingerido. Por vía renal, el alcohol difunde a través del glomérulo y no sufre proceso de reabsorción tubular. La eliminación en la saliva es en cantidades ínfimas. (Gisbert Calabuig J.)

C) Mecanismo de toxicidad

Mecanismo de Toxicidad Gástrica: El etanol causa daño hemorrágico agudo de la mucosa gástrica. Luego de la ingesta de etanol ocurre edema de la mucosa gástrica y congestión vascular debido a que el etanol estimula la liberación de endotelina-1 que tiene una acción vasoconstrictora. La constricción venosa en la submucosa gástrica y la subsecuente dilatación arteriolar ocurren inmediatamente después de la administración intragástrica de concentraciones altas del etanol que resulta en la disminución del flujo sanguíneo de la mucosa gástrica y la consiguiente formación de úlcera. (Kawano S., Tsuji S.)

CUADRO N° 04: Mecanismos de Toxicidad del Etanol

<p align="center">ALTERACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LA FLUIDEZ DE LA MEMBRANA</p>	<p>El alcohol tiene un efecto bifásico; primero aumenta la fluidez de la membrana al incrementar la concentración de los fosfolípidos, para elevar después la rigidez de la misma al acrecentar la concentración de colesterol. Por otra parte el alcohol altera los receptores de membrana e inhibe la ATP-asa.</p>
<p align="center">GENERACIÓN DE HIPOXIA</p>	<p>El metabolismo del alcohol exige un aumento del aporte de O₂, lo que acentúa la hipoxia que se produce normalmente en la zona centrolobulillar hepática. Al mismo tiempo se produce un engrosamiento de los hepatocitos por un doble mecanismo: depósito de grasas y de proteínas. El resultado es que, por un problema de continente/contenido, los sinusoides se van estrangulando y la vascularización, dificultada, con lo que se agrava la hipoxia. El resultado es un incremento en el daño del hepatocito.</p>
<p align="center">DEFICIENCIA DE METABOLITOS ESENCIALES E INHIBICIÓN DE ENZIMAS</p>	<p>Se ha visto disminuido el NADH⁺ H⁺ lo cual repercute en el ciclo de Krebs.</p>
<p align="center">GENERACIÓN DE INTERMEDIARIOS REACTIVOS</p>	<p>a) A través de la fracción que se metaboliza en el sistema microsomal: Este mecanismo puede producir, un radical superóxido, y como consecuencia la peroxidación de lípidos.</p> <p>b) A través de acetaldehído: Los niveles de acetaldehído están aumentados en los alcohólicos, probablemente por inhibición de la ALDH (aldehído deshidrogenasa) lo que tiene graves consecuencias para la célula. Inhibe la formación de los microtúbulos y la excreción de proteínas.</p>

Fuente: Elaboración propia basada en el texto de Gisbert Calabuig J.

2.3.8. TERAPIA DE LA ENFERMEDAD ÁCIDO PÉPTICA

CUADRO N°05: Fármacos Usados en la Terapia de la Enfermedad Ácido Péptica

Grupo	FÁRMACO	MECANISMO DE ACCIÓN	INDICACIONES	DOSIS
Antiácidos	Hidróxido de AL Hidróxido de Mg	Las sales alcalinas de Al, Mg y Na elevan el pH de la cavidad gástrica neutralizando el ácido.	Alivian los síntomas de la ulcera péptica, dispepsia no ulcerosa y reflujo gastroesofágico.	Hidróxido de AL: 400 a 600 mg cada 8h. Hidróxido de Mg: 15 a 20 mEq entre 1 a 3 h después de las comidas.
Antisecretores gástricos	Antagonistas de los receptores H ₂ : (Ranitidina Cimetidina Famotidina Nizatidina)	Actúan por antagonismo competitivo, uniéndose en forma selectiva y reversible a los receptores H ₂ sobre la membrana basolateral de las células parietales gástricas, inhibiendo los efectos ácido estimulantes de la histamina	Ulcera gástrica, esofagitis péptica, ulcera de estrés, síndrome de Zollinger-Ellison, hemorragia digestiva alta	Cimetidina 400 a 600 mg al acostarse, ranitidina y nizatidina 300 mg al acostarse, famotidina 400 mg al acostarse.
	Inhibidores de la bomba de protones (Omeprazol, Lansoprazol)	Producen inhibición irreversible de la H/K ATPasa.	Hiperacidez gástrica, hemorragia digestiva alta, ulceración del esófago, síndrome de Zollinger-Ellison.	Omeprazol: 20 mg una vez al día. Lansoprazol: 30 a 60 mg por día en una sola toma.
Protectores de la mucosa	Sucralfato	El Sucralfato es un polímero de aluminio y sacarosa. Se polimeriza a pH menor de 4, formándose un gel que se adhiere al nicho de las úlceras y lo protege.	Ulcera péptica	1 gr. Cada 4 veces al día con el estómago vacío.
	Misoprostol	El Misoprostol es un análogo sintético de la prostaglandina E ₁ , imita la acción de las prostaglandinas endógenas en el mantenimiento de la barrera mucosa gastroduodenal y promueve la cicatrización a este nivel.	Úlceras por antiinflamatorios no esteroideos	200 a 800 ug cada 2 a 4 veces al día.

Fuente: Elaboración propia basada en el texto de Taylor- Reide, 1999.

La enfermedad gástrica asociada a *Helicobacter pylori* tiene como regímenes terapéuticos los siguientes:

- Régimen doble: Omeprazol (40 mg/día)+ amoxicilina (2 gr) o macrólido (claritromicina 1gr/día o azitromicina), durante 2 semanas.
- Régimen triple: Omeprazol 20mg + Claritromicina 500mg + Metronidazol 800mg, una vez al día/1 semana y/o Omeprazol 20mg + Claritromicina 250mg/2 veces por día +Amoxicilina (a dosis usuales) durante una semana.
- Régimen cuádruple: Omeprazol 20mg + Bismuto subcitrato coloidal (120 mg cuatro veces al día) + Metronidazol (a dosis usuales) + Tetraciclina (a dosis usuales) durante una semana. (Molero G. y Col., 1997)

2.3.9. SUCRALFATO

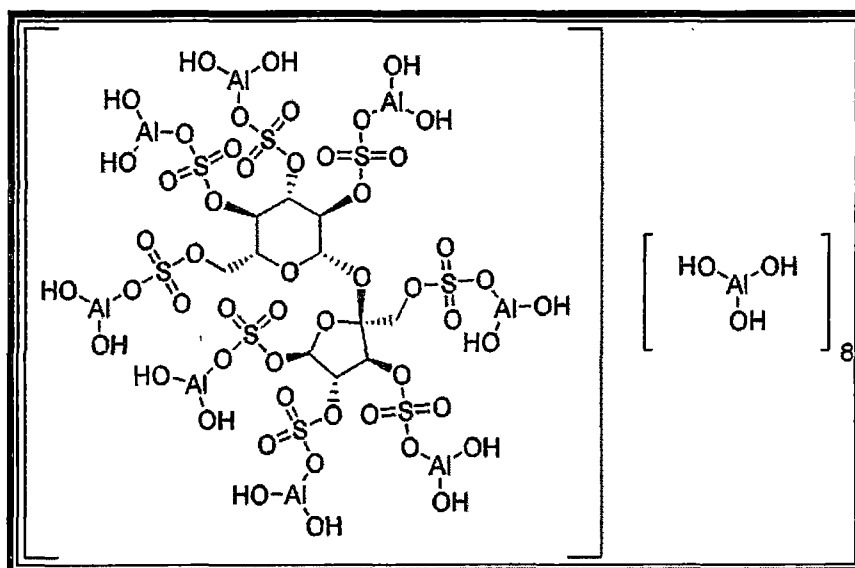


Figura N° 04: Estructura Química del Sucralfato.

Fuente: <http://es.wikipedia.org/wiki/Sucralfato>

2.3.9.1. Mecanismo de acción

El Sucralfato es un polímero de aluminio y sacarosa. Se polimeriza a pH menor de 4, formándose un gel que se adhiere al nicho de las úlceras y lo

protege. Produce efectos favorables sobre el flujo sanguíneo de la mucosa y sobre la secreción de prostaglandinas y bicarbonato, y, presumiblemente, constituye una barrera adicional frente al ácido, permitiendo el desarrollo normal del gradiente de pH que produce el bicarbonato. Así mismo, el Sucralfato reduce el número de microorganismos presentes y su adherencia a la mucosa gástrica en la infección por *H. pylori*, lo que podría explicar la menor frecuencia de recurrencias cuando se usa este fármaco. (Taylor M., 1999)

2.3.9.2. Vía de administración

El Sucralfato se administra por vía oral.

2.3.9.3. Farmacocinética

Tras su administración oral, el Sucralfato ejerce una acción local y prolongada sobre la mucosa gástrica, la mayor parte se excreta por heces; solo una pequeña porción se absorbe (3-5 % de la dosis ingerida) y se elimina por orina de forma inalterada.

Teniendo en cuenta que el Sucralfato requiere un medio ácido para su activación, se recomienda su administración antes de las comidas; por la misma razón se debe evitar el uso conjunto con antiácidos y, si esto no es posible, espaciar las dosis. (Velázquez y Col., 2004)

2.3.9.4. Indicaciones

El Sucralfato se usa en el tratamiento de la úlcera péptica, y en el tratamiento de esofagitis por reflujo producida por ácido. (Taylor- Reide, 1999)

2.3.9.5. Contraindicaciones

El Sucralfato no debe ser administrado a pacientes que tengan un deterioro importante de la función renal, ya que el aluminio podría acumularse en el organismo. (Taylor- Reide, 1999)

2.3.9.6. Interacciones

De forma general conviene evitar la administración conjunta de Sucralfato con otros fármacos, ya que se ha visto que la biodisponibilidad de algunos principios, como las fluoroquinolonas, la fenitoína, la quinidina, el propranolol, la digoxina, la teofilina y el ketoconazol, están disminuidas. (Velázquez y Col., 2004)

2.3.9.7. Efectos adversos

El Sucralfato produce muy pocos efectos adversos. El aluminio que contiene puede producir estreñimiento. Sin embargo, en pacientes con insuficiencia renal se ha de controlar su empleo, debido a la toxicidad del aluminio, y es necesario evitar la administración conjunta de este fármaco con antiácidos que contengan aluminio. (Velázquez y Col., 2004)

2.3.9.8. Dosis

La dosis oral recomendada en adultos es 1 gr cuatro veces al día o 2 g dos veces al día con el estómago vacío (1 hora antes de cada comida y al acostarse). La dosis de mantenimiento recomendada para úlcera duodenal es 1g dos veces al día o 2 g por la noche. (Taylor M., 1999)

2.3.10. OMEPRAZOL

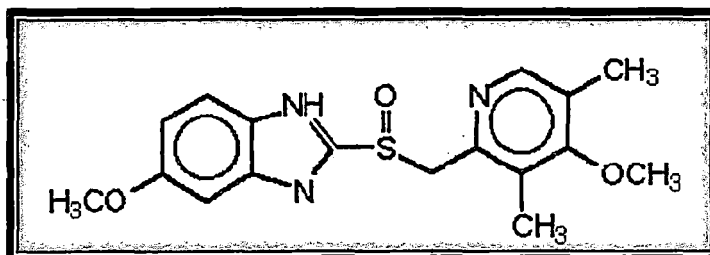


Figura N° 05: Estructura Química del Omeprazol.

Fuente: <http://es.wikipedia.org/wiki/Omeprazol>

2.3.10.1. Mecanismo de acción

El Omeprazol actúa en la vía final de los mediadores de control de la secreción del HCl, a diferencia de los bloqueadores de la H_2 que actúan en una de las vías comunes para regulación de la secreción de ácidos, por lo que en estos queda libre la estimulación por las vías colinérgicas y de gastrina.

El Omeprazol es, por lo tanto inhibidor más eficaz de la secreción del HCl en el estómago. Es considerado un profármaco, ya que toda vez que se absorbe, se distribuye, etc. llega a la célula parietal donde es protonado, acumulado y luego transformado a la forma activa que finalmente es la que se une a la bomba $H^+/K^+ATPasa$ en forma irreversible, suprimiendo la secreción del HCl.

Actúa a nivel de la bomba de $H^+/K^+ATPasa$ que se encuentra en la luz del canalículo secretor de la célula parietal y puede disminuir la secreción del ácido en más del 90%. Incluso con la administración de una sola dosis, una o dos horas después de haber ingerido la tableta.

El Omeprazol no inhibe la secreción de factor intrínseco, ni tampoco el pepsinógeno, y produce pocas alteraciones en hormonas gastrointestinales, probablemente porque el volumen de la secreción del ácido gástrico no se modifica de modo considerable. Inhibe la absorción de cianocobalamina, por lo que se recomienda administrarla parenteralmente en usos crónicos.

2.3.10.2. Farmacocinética

El Omeprazol tiene una vida media de 0.5 a 1.5 horas, en una dosis de 40 mg, pero inhibe la secreción del ácido hasta en 34% después de tres días y 18%, después de cuatro días. La biodisponibilidad es de 30 a 40% para la primera toma, pero aumenta a 65% después de varias dosis. La absorción del

fármaco se retrasa con la absorción de los alimentos, por lo que se recomienda para la vía oral tomarlo una hora antes de los alimentos.

En el plasma se une a la albúmina y a una α -glucoproteína, calculándose la unión a proteínas de 95%. Su volumen de distribución es 0.35L/Kg y se metaboliza en el hígado sin inducir al citocromo P450. La excreción es fundamentalmente renal, ya que del total, sólo 16% corresponde a la eliminación biliar (la fecal es consecuencia de la biliar).

2.3.10.3. Indicaciones

Está indicado en el tratamiento de la úlcera duodenal, úlcera gástrica benigna, esofagitis por reflujo gastroesofágico, reflujo gastroesofágico sintomático, síndrome de Zollinger-Ellison, tratamiento y profilaxis de la gastropatía por AINEs y como coadyuvante en la erradicación de *Helicobacter pylori*.

2.3.10.4. Contraindicaciones

La hipersensibilidad es la primera contraindicación; sin embargo, no hay reportes de caso al respecto. Por otro lado, el bloqueo que se produce en la secreción de hidrogeniones puede complicar la regulación del pH plasmático, por lo que se recomienda usarlos con cuidado en casos de alcalosis, sea respiratorio o metabólica. De la misma forma, la administración de bicarbonato de sodio, puede disminuir la absorción del fármaco y agravar una alcalosis. En el mismo sentido, el uso inadecuado de diuréticos puede provocar disminución de K^+ sérico, que puede agravarse con el uso concomitante de Omeprazol. Está contraindicado, por tanto en la hipokalemia o hipocalcemia.

2.3.10.5. Interacciones

Por el contrario, los fármacos que disminuyen su efecto con el uso concomitante de Omeprazol son Itraconazol, Ketoconazol y suplementos de hierro, entre los más importantes.

2.3.10.6. Efectos adversos

Diarrea o dolor abdominal, náusea y vómito. En pacientes con síndrome de Zollinger Ellison que han recibido Omeprazol por varios años, se ha reportado disminución de los niveles séricos de vitamina B, por lo que en estos casos se recomienda administrarlos parenteralmente. (Mendoza P., 2008)

2.3.10.7. Dosificación

La dosificación usual en adultos es la siguiente:

- **Úlcera duodenal:** La dosis recomendada es de 20 mg (1 cápsula) 1 vez al día, vía oral, por 2 a 4 semanas.
- **Úlcera gástrica:** La dosis recomendada es de 20 mg (1 cápsula) 1 vez al día, vía oral, durante 4 a 8 semanas.
- **Esofagitis por reflujo gastroesofágico:** La dosis recomendada es de 20 mg (1 cápsula) 1 vez al día, vía oral, durante 4 a 8 semanas.
- En pacientes con úlcera péptica refractaria a otros regímenes de tratamiento, se utiliza una dosis de 40 mg (2 cápsulas) 1 vez al día, vía oral, por 4 a 8 semanas.
- **Eradicación del *Helicobacter pylori*:** Omeprazol 40 mg/día (2 cápsulas 1 vez al día o 1 cápsula de 20 mg 2 veces al día), asociado a 2 antibióticos (Amoxicilina 1.000 mg y Claritromicina 500 mg, 2 veces/día, vía oral; opcionalmente, Claritromicina 500 mg y Tinidazol 500 mg, 2 veces/día)

durante 1 semana; a continuación omeprazol 1 cápsula de 20 mg 1 vez al día por 2 semanas o más, de acuerdo con el criterio médico.

- **Síndrome de Zollinger-Ellison:** La dosis inicial recomendada es de 60 mg de omeprazol 1 vez al día, vía oral, la cual se debe ajustar individualmente y continuarse el tratamiento mientras que esté indicado clínicamente y de acuerdo con el criterio médico.
http://www.dromayor.com.co/diccionario/PLM/productos/20806_14.htm

2.3.11. ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DEL HÍGADO DE RATA

2.3.11.1. ANATOMÍA DEL HÍGADO DE LA RATA

El hígado es un órgano de color rojo oscuro ubicado del lado derecho y por debajo del diafragma, se compone de cuatro lóbulos: el lóbulo medio, siendo este el más grande, el lóbulo derecho, el lóbulo izquierdo, y el lóbulo caudal izquierdo. La vesícula biliar se encuentra ya sea en el lóbulo caudal o en la parte posterior del lóbulo medio. El bazo de los machos es 50% más largo que el de las hembras. Este es una importante consideración cuando se preparan datos con pesos de órganos. (Quezada A., 1997)

2.3.11.2. FISIOLÓGÍA DEL HÍGADO DE LA RATA

Situado entre el sistema gastrointestinal y el resto del organismo, el hígado ocupa una posición estratégica que le permite realizar sus múltiples funciones: interviene en el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos, en la detoxificación del organismo y en las ratas incluye la producción de bilis que en otros mamíferos la realiza la vesícula biliar. (Quezada A., 1997)

El hígado se compone de láminas, o monocapas de hepatocitos, que están bañadas, por ambos lados, por la sangre procedente de las sinusoides hepáticas. Entre cada hilera de células hay un pequeño espacio creado por las cavitaciones de las membranas plasmáticas de dos células yuxtapuestas.

Las partes de las membranas plasmáticas que tapizan los espacios están aisladas del resto de la membrana plasmática mediante uniones estrechas que cierran los espacios al medio extracelular que les rodea. Dentro de las monocapas, estos espacios se unen para formar canales, o canaliculos, que conectan con los conductos biliares. El epitelio del conducto biliar es metabólicamente activo y capaz de alterar la composición de la bilis canalicular mediante la adición de agua y electrolitos, sobre todo bicarbonato. (Gunningham, J. 2009)

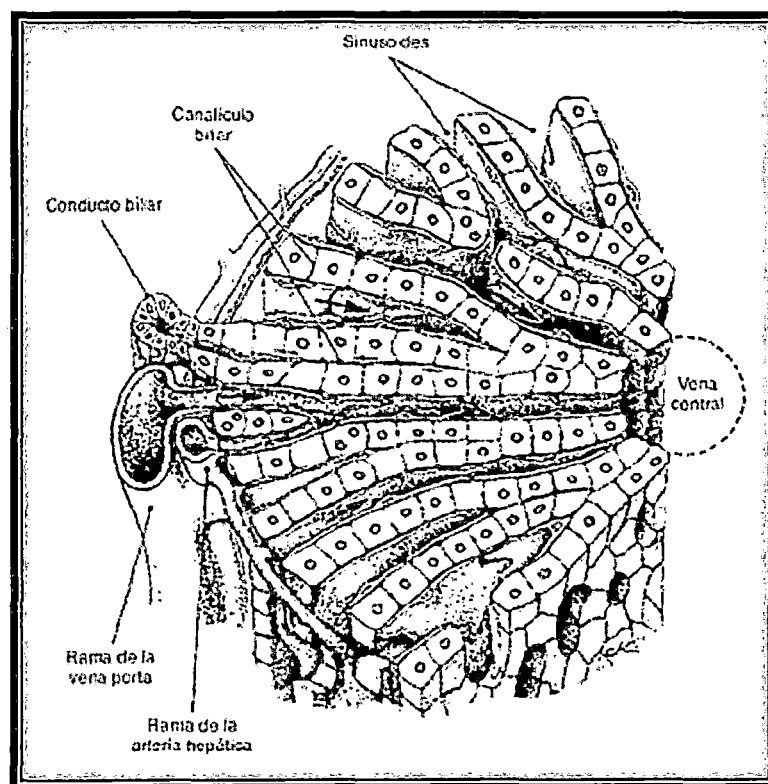


Figura N° 06: Anatomía Microscópica del Hígado de la Rata.
Fuente: Gunningham, J. 2009.

2.3.12. PATOLOGIAS HEPÁTICAS

Morfológicamente las lesiones inducidas por los agentes hepatotóxicos se pueden clasificar según sus distintas formas de manifestación, teniendo en

cuenta, además, las alteraciones histopatológicas, tipo celular afectado, así como al cuadro clínico a que dan origen.

2.3.12.1. Lesiones Agudas

A) Esteatosis o hígado graso (acumulación de lípidos)

Los factores más importantes que causan este desorden son: las tetraciclinas, etanol, disolventes orgánicos halogenados. Bioquímicamente consiste en el incremento del contenido graso del hígado superior al 5% de su peso. Aparece como resultado de un desequilibrio entre la síntesis y secreción de triglicéridos, bien por un mayor aporte de ácidos grasos no esterificados o por una excesiva producción de triglicéridos u otras fracciones lipoproteicas. En las preparaciones histológicas convencionales se observan múltiples vacuolas vacías en el interior del hepatocito que no siempre desplazan al núcleo a la periferia, o una sola vacuola de gran tamaño que desplaza el núcleo a la periferia celular. La esteatosis es una respuesta común a la exposición aguda de la mayoría de hepatotoxinas, pero no de todas (una excepción la constituye el paracetamol). Esta esteatosis de origen tóxico, aunque produce una importante disfunción celular, suele ser reversible y no necesariamente conduce a la muerte hepatocelular. La esteatosis, además de presentarse de forma aislada, puede presentarse asociada a necrosis hepática, pero carece de traducción clínica propia. (Gisbert Calabuig J.)

B) Necrosis hepatocelular

En general, los agentes tóxicos producen necrosis de la zona centrolobulillar, por ejemplo, Tetracloruro de Carbono, Paracetamol, hongos, etc. La necrosis es la reacción tóxica más adversa y se debe a la formación de enlaces covalentes entre un metabolito intermediario reactivo al tóxico y macromoléculas del hepatocito (proteínas o DNA), aunque últimamente se postula también una alteración de la homeostasis del calcio (debido a alteraciones de la permeabilidad de la membrana celular y posterior pérdida

de su integridad), la necrosis se asocia a degeneración balonizante, rotura de la célula con salida de su contenido, desintegración nuclear y una afluencia de células inflamatorias. (Gisbert Calabuig J.)

C) Colestasis canalicular

Entre las principales sustancias tóxicas que pueden producir colestasis destacan metales, hormonas, anabolizantes, clorpromazina, etanol, faloidina, etc. Es una alteración de la función excretora del hepatocito y, desde el punto de vista bioquímico, se produce una elevación plasmática de aquellos compuestos que normalmente están concentrados en la bilis, especialmente bilirrubina. Histológicamente se observa dilatación de canálculos biliares y presencia de trombos biliares dentro de los conductos biliares e incluso de los canálculos. La permeabilidad de la membrana canalicular aumenta, disminuyen la formación de micelas y se alteran las estructuras filamentosas pericanaliculares. La colestasis se asocia a necrosis hepatocelular. (Gisbert Calabuig J.)

2.3.12.2. Lesiones Crónicas

A) Cirrosis

La exposición repetida a una sustancia tóxica puede terminar produciendo necrosis y sustitución de las células destruidas por tejido fibroso, a nivel de la vena central o del espacio porta. Si continúa la fibrosis, se distorsiona la arquitectura normal del hígado por la aparición de puentes fibrosos que interconectan. La cirrosis hepática de origen toxico-medicamentoso es de origen excepcional. (Gisbert Calabuig J.)

B) Tumores

Los tumores hepáticos de origen tóxico pueden derivar de los hepatocitos (cáncer hepatocelular) o, más raramente de los sinusoides hepáticos (angiosarcomas). Los andrógenos y aflatoxinas se han relacionado con el

primer tipo mientras que la exposición ocupacional, cloruro de vinilo, arsénico y dióxido de torio (contraste radioactivo) se ha asociado al angiosarcoma. Otras sustancias de uso industrial y que son capaces de producir neoplasias hepáticas son los derivados del azobenceno y el amarillo de manteca. (Gisbert Calabuig J.)

2.3.13. TÓXICOS HEPÁTICOS

CUADRO N° 06: Tóxicos Hepáticos

FARMACOS	METALES	COMPUESTOS INDUSTRIALES
<ul style="list-style-type: none"> - Isoniazida - Rifampicina - Sulfas - Tetraciclinas - Halotano - Carbamazepina - Valproato - Indometacina - Paracetamol 	<ul style="list-style-type: none"> - Mercurio (SH) - Hierro - Cobre - Arsénico 	<ul style="list-style-type: none"> - Etanol - Tetracloruro de carbono - Cloroformo - Trinitrotolueno - Insecticidas clorados

Fuente: Elaboración propia basada en el texto de Litter M., 1988.

2.3.13.1. FÁRMACOS

A) Paracetamol: El acetaminofén presenta efectos tóxicos dependientes de la dosis. Al ingerir dosis grandes de la droga el citocromo P450 genera cantidades de NAPQI (N-acetil-p-benzoquinona imina) capaces de agotar las reservas hepáticas de glutatión. Este metabolito ejerce su toxicidad al unirse de forma covalente a macromoléculas y produciendo radicales libres, desarrollando necrosis hepática en tan sólo 12 horas.

B) Tetraciclinas: La Hepatotoxicidad inducida por tetraciclinas es observada usualmente como una degeneración grasa del hígado. Esto mayormente ocurre en mujeres embarazadas, pacientes que reciben terapia con alta dosis intravenosa, y en pacientes con deterioro de la función renal. (Sisamón I., 2003)

2.3.13.2. METALES

Los metales pesados y sus derivados tienen afinidad por grupos sulfhidrilo libres del GSH, aminoácidos y proteínas (enzimas). La exposición a los metales pesados (como el Hg) puede reducir drásticamente la reserva de grupos SH disponibles y producir estrés oxidativo. La unión de metales pesados a SH de proteínas puede también causar inhibición no competitiva de muchas enzimas.

El hígado es el principal sitio de almacén de hierro por lo que es susceptible de daño por sobrecarga. El hierro y otros metales pesados (cobre, vanadio, níquel) generan especies reactivas de oxígeno, con lo que incrementan la peroxidación lipídica de las membranas hepáticas y la disfunción mitocondrial. (Gisbert Calabuig J.)

2.3.13.3. ETANOL

El acetaldehído es el producto de la oxidación del etanol, su metabolización a acetato en la mitocondria puede disminuir por efecto de la ingesta crónica de alcohol, generándose así un exceso de acetaldehído que es una molécula altamente reactiva con aminos y otras moléculas; estableciendo enlaces covalentes con proteínas del hepatocito (membranas, citoesqueleto, enzimas, etc.); el daño puede generarse por la unión misma que genera una respuesta inmunológica (autoanticuerpos), peroxidación de lípidos de las membranas, generación de hipoxia por el aumento del consumo de oxígeno. Además la ingesta de alcohol y la hipertensión portal favorecen la traslocación bacteriana

y de endotoxinas desde el lumen intestinal a la sangre las cuales activan a las células de Kúpffer de ello resulta la producción de citoquinas, eicosanoides y radicales del oxígeno, los cuales participan en la generación de necrosis, apoptosis, inflamación y fibrosis. (Glasinovic J., 2000)

2.3.13.4. TETRACLORURO DE CARBONO (IV)

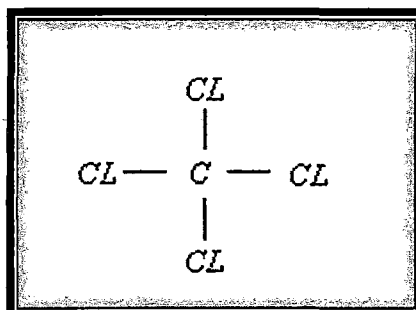


Figura N° 07: Estructura Química del Tetracloruro de Carbono.

Fuente: http://html.rincondelvago.com/quimica_121.html

Es un líquido, volátil, cuyos vapores son cinco veces más densos que el aire, es un excelente disolvente, de muy bajo costo, de ahí que haya sido ampliamente utilizado en los ámbitos industrial y doméstico. En los últimos tiempos su uso se ha restringido al conocerse con más detalle su toxicidad, lo que ha llevado a su sustitución por otros disolventes menos tóxicos como el metilcloroformo (tricloroetano) y el tricloroetileno.

A) Fuentes de intoxicación

Las fuentes de intoxicación están representadas por el propio tetracloruro de carbono y sus vapores, durante la utilización. Los principales usos industriales han sido: como disolvente, fumigante, extintor de incendios, vehículo para pinturas y barnices, limpieza en seco, desengrasado de piezas metálicas, industria de síntesis, etc. Su descomposición térmica genera fosgeno y ácido clorhídrico (HCl), lo que hizo que prohibieran su uso en extintores desde comienzos de la década de 1960.

B) Toxicocinética

La absorción es fundamentalmente respiratoria. Se absorbe escasamente por la piel intacta. De forma experimental se ha visto que el tetracloruro de carbono se concentra en el tejido adiposo. La inhalación de sus vapores produce una elevada concentración en el hígado y riñón con respecto a los valores sanguíneos.

Un alto porcentaje (50-80%) se elimina por vía pulmonar sin transformarse. El resto se metaboliza en el hígado mediante una reducción catabolizada por el sistema monooxigenasa. Este metabolismo conlleva la formación de radicales libres (radical triclorometilo). Otros metabolitos del tetracloruro de carbono son el cloroformo y el fosgeno.

C) Efectos tóxicos

El tetracloruro de carbono es uno de los compuestos más tóxicos dentro del grupo de los derivados halogenados. Es tóxico del SNC, del riñón, del hígado, e irritante de piel y mucosas.

D) Mecanismo de Hepatotoxicidad

CUADRO N°08: Mecanismo de Acción del Tetracloruro de Carbono

ALTERACIÓN DE MENBRANAS	Mitocondrias y retículo endoplasmático.
GENERACIÓN DE HIPOXIA	Al originar edema celular, los hepatocitos sufren una disminución del flujo sanguíneo por compresión mecánica sobre los capilares.
GENERACIÓN DE RADICALES LIBRES	Radical triclorometilo, que produce peroxidación de ácidos grasos alterando los lípidos de la membrana, además de unirse a proteínas y lípidos originando necrosis celular, diclorocarbeno, que inactiva el citocromo P-450 y se une a proteínas provocando necrosis celular, y peroxi, que interfiere con los aminoácidos tirosina y triptófano). Este último mecanismo es el más importante en la toxicidad del tetracloruro de carbono.

Fuente: Elaboración propia basada en el texto de Gisbert Calabuig J.

En el hígado produce su efecto tóxico por alteración de la capacidad de los hepatocitos para ligar los triglicéridos a las lipoproteínas transportadoras originando acumulación intracelular de lípidos y degeneración grasa del hígado, formación de metabolitos extremadamente tóxicos, que origina muerte celular y necrosis hepática.

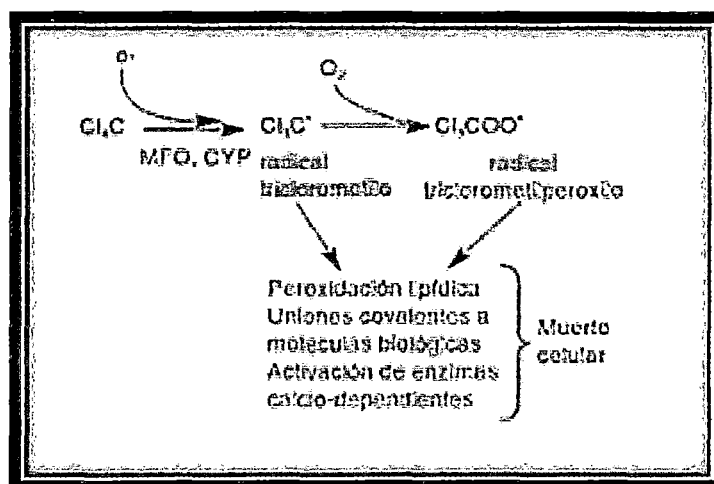


Figura N° 08: Mecanismo de hepatotoxicidad del tetracloruro de carbono.

Fuente: Repetto J., Repetto K., 2009.

E) Manifestaciones clínicas

La exposición aguda produce una depresión del SNC seguida de alteraciones hepáticas y renales. Los síntomas iniciales incluyen cefalea, debilidad, visión borrosa, ataxia y disminución del nivel de conciencia dependiendo de la intensidad y duración de la exposición. Suele ir acompañada de síntomas digestivos (náuseas, vómitos, diarreas y dolor abdominal). Las alteraciones hepáticas y/o renales aparecen 2 a 4 días después de la exposición. La hepatotoxicidad consiste en una necrosis centrolobulillar, con alteración de las pruebas de función hepática, pudiendo producirse la muerte por fallo hepático en la primera semana. Las alteraciones renales pueden aparecer en ausencia de daño hepático y la anuria ocurre en los tres primeros días, si bien la recuperación suele ser completa. La intoxicación crónica es propia de

trabajadores que lo inhalaban de forma continua. Se manifiesta por una esteatosis hepática (o hígado graso) que evoluciona a cirrosis. Además se ha comprobado que el tetracloruro de carbono no es cancerígeno en animales (hámster, ratón, rata), si bien en humanos no se ha podido establecer una relación clara. (Gil Hernández, 2005)

2.3.14. DETERMINACIÓN DEL DAÑO HEPÁTICO

2.3.14.1. PRUEBAS BIOQUÍMICAS HEPÁTICAS

Las pruebas bioquímicas hepáticas denominadas a menudo como pruebas de función hepática, son útiles en evaluación y el tratamiento de las hepatopatías. Proporcionan un método no invasivo de detección de la existencia de disfunción hepática. Además, el patrón de anomalías ayuda a reconocer el tipo general de trastorno hepático. Así mismo ayudan a determinar la gravedad de la disfunción hepática y evaluar la respuesta de la terapia.

CUADRO N°09: Pruebas Bioquímicas de Función Hepática

<p>A. Pruebas para Detectar Lesión de los Hepatocitos (Pruebas de Lesión Hepática)</p> <ul style="list-style-type: none"> • AST (TGO) • ALT (TGP) • Fosfatasa alcalina • 5'-nucleotidasa • Leucina aminopeptidasa • Gammaglutamil transpeptidasa • Bilirrubina
<p>B. Pruebas de la Capacidad Biosintética del Hígado</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tiempo de protrombina • Albúmina sérica
<p>C. Pruebas para Detectar Inflamación</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inmunoglobulina G y M

Fuente: Ganong F., 2003.

A) Transaminasas ALT (TGP) y AST (TGO)

Las transaminasas séricas son indicadores sensibles de lesión hepática, los indicadores más frecuentemente utilizados de disfunción del hepatocito son la alanina aminotransferasa (ALT, conocida también como transaminasa glutámico-pirúvica sérica o SGPT) y la aspartato aminotransferasa (AST, conocida también como transaminasa glutámico-oxalacética sérica o SGOT). Estas enzimas catalizan la transferencia de los grupos α -amino de la alanina y el ácido aspártico respectivamente, al grupo α -ceto del ácido cetoglútarico. Ambas requieren como cofactor el 5-fosfato de piridoxal. En los tejidos, la ALT se encuentra en el citosol, mientras que la AST está en el citosol y en las mitocondrias. Ambas aminotransferasas están presentes normalmente en el suero en bajas concentraciones (menos de 30 a 40 UI/L).

La aspartato aminotransferasa se encuentra en: hígado, músculo cardíaco, músculo esquelético, riñones, cerebro, páncreas, pulmones, leucocitos y eritrocitos, en orden decreciente de concentración. La alanina aminotransferasa está presente en su mayor concentración en el hígado y es una prueba más sensible y específica del daño hepático agudo.

La aspartato aminotransferasa se elimina más rápidamente que la alanina aminotransferasa. La mayoría de las transaminasas se eliminan por el sistema retículo endotelial. Ni la ALT ni la AST tienen isoenzimas específicas de tejido. (Rajender R. y Long W., 2005)

CUADRO N°10: Causas de la Elevación de las Transaminasas

Más de 10 veces <ul style="list-style-type: none">- Hepatitis viral aguda- Hepatitis tóxica
Menos de 10 veces <ul style="list-style-type: none">- Hepatitis alcohólica (GOT/GPT>2)- Hepatitis tóxica- Hepatitis crónica- Cirrosis- Esteatohepatitis (hígado graso)- Masa ocupante- Colestasis

Fuente: Argente H., Alvarez M., 2008.

Las transaminasas están elevadas en todos los tipos de hepatitis aguda y crónica, la cirrosis, la mononucleosis infecciosa, la insuficiencia cardíaca, las neoplasias y la hepatopatía alcohólica. Los mayores aumentos ocurren en trastornos asociados con lesión hepatocelular extensa (lesiones producidas por infecciones víricas y fármacos), insuficiencia cardíaca aguda y tras la exposición a hepatotoxinas como el tetracloruro de carbono. Habitualmente, en la hepatopatía alcohólica los valores son inferiores a 300UI y rara vez superan las 500 UI en la ictericia obstructiva o en la cirrosis.

Existe una mala correlación entre la extensión del daño hepatocelular y la elevación de transaminasas. El cociente AST/ALT tiene valor en el reconocimiento de la hepatopatía alcohólica, siendo un valor mayor de 3 altamente sugestivo. Esto es debido a la baja actividad sérica de la ALT. La hepatopatía alcohólica da lugar a deficiencia de 5'-fosfato de piridoxal y la síntesis de la ALT en el hígado requiere más de este factor que la síntesis de AST.

Un segundo trastorno, mucho menos frecuente caracterizado por una elevación desproporcionada de AST respecto a ALT, es la agudización de la enfermedad de Wilson. Un cociente mayor a 4 dentro del cuadro clínico

apropiado, especialmente con una fosfatasa alcalina baja, es sugestivo de hepatitis fulminante por enfermedad de Wilson. Las elevaciones de transaminasas pueden anunciar una hepatitis vírica aguda y la elevación de la bilirrubina sérica puede retrasarse hasta una semana. Pueden verse valores bajos de AST en pacientes con uremia. Esos valores bajos aumentan después de la diálisis, sugiriendo que en el suero urémico está presente un inhibidor dializable. (Rajender R. y Long W., 2005)

CUADRO N°11: Causas de predominio de la elevación de Transaminasas

Predominio de AST (TGO)	Predominio de ALT(TGP)
<ul style="list-style-type: none"> - Hepatitis crónica por VHC. - Hepatitis crónica por VHB. - Fármacos/toxinas. - Esteatosis/esteatohepatitis alcohólica. - Hemocromatosis. - Hepatitis autoinmune. - Enfermedad de Wilson. - Déficit de A1AT. - Enfermedad celiaca. - Hepatitis agudas virales (por los virus A, B, C, E, Epstein-Barr o Citomegalovirus). 	<ul style="list-style-type: none"> - AST>1 enfermedad hepática de origen alcohólico (esteatosis, hepatitis alcohólica o cirrosis). - AST/ALT>1 cirrosis independientemente de cuál sea la etiología de la misma. - Otras causas no hepáticas: hemólisis, miopatía, enfermedad tiroidea, ejercicio intenso y macro-AST.

Fuente: Prieto V., Yuste A., 2010.

B) Fosfatasa Alcalina

La fosfatasa alcalina (FA) comprende un grupo de enzimas presentes en una amplia variedad de tejidos que incluyen: hígado hueso, intestino, riñón, placenta, leucocitos y diversas neoplasias. La FA cataliza la hidrólisis de un gran número de ésteres orgánicos de fosfato. Tiende a aumentar en tejidos que experimentan un estímulo metabólico, de ahí el aumento durante la adolescencia y el embarazo. El hígado y el hueso son las mayores fuentes de

FA sérica. La FA hepática está presente en la zona apical de la membrana plasmática hepatocitaria y en la zona luminal del epitelio del conducto biliar. Los aumentos de FA en las hepatopatías proceden de la síntesis aumentada y del incremento de su liberación al suero más que de una secreción biliar deteriorada. Dado que las elevaciones séricas de FA puede no estar elevada en las siguientes 24 a 48 horas de la obstrucción biliar aguda. Además, dado que la semivida de la FA sérica es de aproximadamente de una semana, el valor sérico puede permanecer elevado durante semanas tras la resolución de la obstrucción biliar.

Los valores de FA de hasta tres veces por encima de lo normal son relativamente inespecíficos y ocurren en diferentes hepatopatías. Sin embargo, se observan elevaciones notables en la obstrucción biliar intra y extrahepática y en las hepatopatías infiltrativas. Los valores extremadamente bajos pueden observarse en pacientes con enfermedad de Wilson fulminante complicada con hemólisis. (Rajender R. y Long W., 2005)

C) Bilirrubina

La bilirrubina presente normalmente en el suero representa un equilibrio entre el aporte por la producción y la eliminación hepática del pigmento. Las causas de hiperbilirrubinemia incluyen la producción excesiva, la captación, la conjugación o la excreción alteradas de la bilirrubina, y la secreción de los hepatocitos o conductos biliares dañados. La bilirrubina sérica total no es un indicador sensible de la disfunción hepática y puede reflejar, no siempre con seguridad, el grado de daño hepático. En la hepatitis alcohólica aguda, la hiperbilirrubinemia es más de 5 mg/dl, indica un mal pronóstico. Sin embargo, la hemólisis no complicada rara vez produce un valor de bilirrubina sérica superior a 5 mg/dl. El fraccionamiento de la bilirrubina sérica en pacientes icterícos no permite hacer una distinción entre la ictericia parenquimatosa y colestásica. (Rajender R. y Long W., 2005)

2.3.15. AGENTES HEPATOPROTECTORES

Los fármacos hepatoprotectores provocan la curación o regeneración del hepatocito lesionado, impiden que la situación de éste continúe deteriorándose bajo la influencia del agente agresivo, usualmente, una sustancia química.

Los fármacos hepatoprotectores se pueden clasificar en varios grupos, de acuerdo con su estructura química, procedencia o su mecanismo de acción. (Cascales A., Ferrandiz G., 1985)

CUADRO N°12: Clasificación de los Fármacos Hepatoprotectores

Aminoácidos y Derivados: <ul style="list-style-type: none">- L-cisteína- N- Acetil-L-cisteína- Glutación reducido- Ácido tiazolindín carboxílico y tiazolindincarboxílico de arginina- Ácido α, α'-ditiocaproico- Diobenzotiolina- Malotílano
Flavonoides y Productos de Origen Natural: <ul style="list-style-type: none">- Silimarina- (+)-cianidazol-3- Schizandrín B
Transmetilantes: <ul style="list-style-type: none">- s-adenosil-L-metionina
Coleréticos con Acción Hepatoprotectora: <ul style="list-style-type: none">- Ácido cicloxílico- Piprozolina- Ácido ursodeoxicólico

Fuente: Cascales A., 1985.

2.3.16. SILIMARINA

La Silimarina se extrae de la planta Cardo Mariano (*Silybium marianum*), que es un flavonoide, derivado de la flavona, la Silimarina es una mezcla de

flavolignan: Silibina o Silibinina (componente más activo), Isosilibina, Silidianina y Silicristina

La Silimarina es un polvo amarillento inodoro e insípido. Poco soluble en agua pero soluble en alcohol. (Abenavoli L. y Col., 2011)

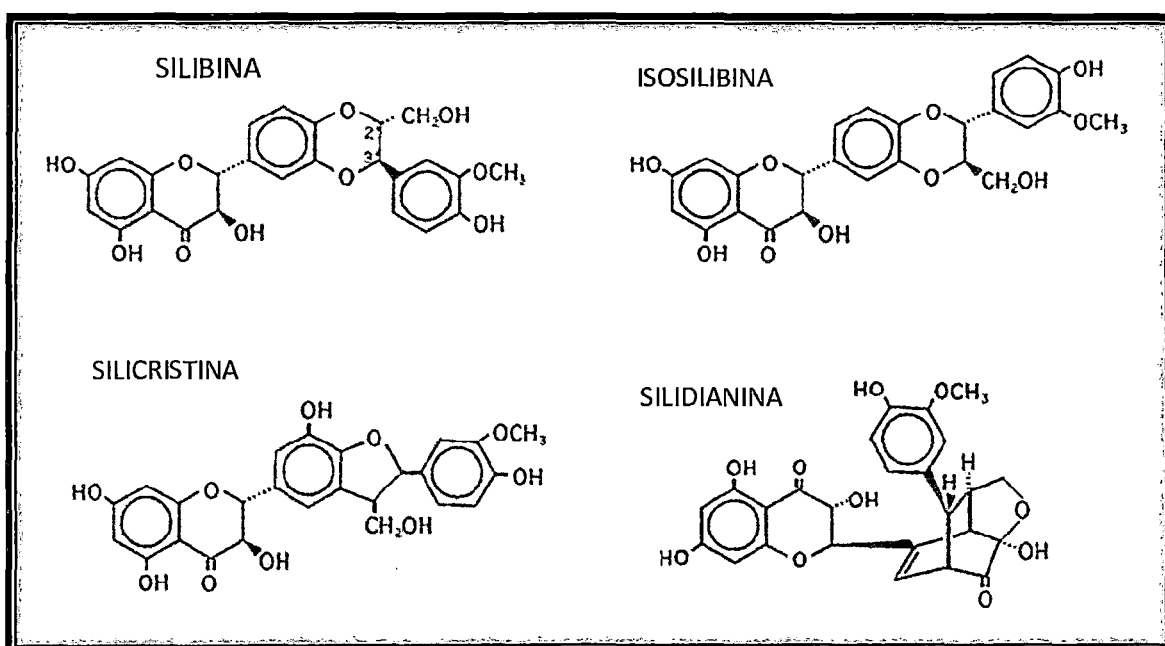


Figura N° 09: Estructura Química de los Componentes de la Silimarina.

Fuente: Abenavoli L. y Col., 2011.

A) Mecanismo de acción

La Silimarina ha demostrado actuar sobre las células del hígado como antagonista frente a agentes hepatotóxicos a través de dos mecanismos de acción: modificación de la estructura celular externa de los hepatocitos impidiendo la penetración de las toxinas dentro de las células; y aumento de la síntesis proteica ribosomal lo que estimula la producción de nuevos hepatocitos y la regeneración del hígado. También ha demostrado acción antioxidante y captadora de radicales libres. (Fonnegra G. y Col., 2007)

B) Farmacocinética

La Silimarina se absorbe bien por todas las vías, pero su destino y excreción no han sido bien estudiados.

La Silimarina normalmente se administra en cápsulas como un extracto estándar (70 a 80% de Silimarina). La absorción tras la administración oral es baja. Las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan en 4 a 6 horas. La Silimarina se excreta principalmente en la bilis y en menor medida en la orina. Su vida media de eliminación varía de 6 a 8 horas. Los componentes de la Silimarina se conjugan rápidamente con sulfato y ácido glucorónico en el hígado. Estos componentes conjugados pasan al plasma y la bilis, donde se encuentran en cantidades que corresponden al 80% de la dosis total administrada. Una parte se elimina en la orina. (Fraschini F. y Col., 2002)

C) Toxicidad

La droga es muy poco tóxica y solamente algunas veces se ha observado un efecto laxante, sin mayor importancia.

D) Vía de administración y dosis

70 g. Tres veces al día vía oral.

E) Indicaciones terapéuticas y plan de administración:

Se utiliza la Silimarina en la hepatitis aguda y crónica, esteatosis hepática, especialmente en el alcoholismo crónico y cirrosis, 70 a 140 mg. Tres veces por día, con resultados favorables, mejoras subjetivas y objetivas evidenciadas por mejoría de los resultados de las pruebas funcionales hepáticas. (Litter M., 1988)

2.3.17. PRINCIPIOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN CON ANIMALES

El uso de animales en la investigación, enseñanza y pruebas, es aceptable solamente si contribuye en forma efectiva a la mejor comprensión de principios

biológicos fundamentales, o al desarrollo de conocimientos que, razonablemente, podemos esperar que beneficien a los seres humanos o a los animales.

La primera condición del investigador que trabaja con animales de laboratorio es el respeto por la vida, el dolor o el sufrimiento a que éstos pueden ser sometidos en los trabajos de experimentación bajo su responsabilidad. Siempre que se usen animales en investigación, se debe considerar que un objetivo tan importante como el de obtener resultados experimentales, será el de minimizar cualquier dolor o angustia que dichos animales puedan sufrir. El refinamiento de los procedimientos para conseguir que estos no causen sufrimiento debe ser parte integrante de toda investigación científica. Esto es importante tanto desde el punto de vista de la preocupación humanitaria como para cumplir con los requisitos de la legislación sobre animales de investigación.

Así mismo, se puede decir que la investigación biomédica en animales es éticamente aceptable, si se sigue el principio de las tres R de la experimentación humanizada para con los animales, propuesta por William Russell (zoólogo y psicólogo) y Rex Burch (microbiólogo) en 1959: Reducir, Reemplazar y Refinar.

- **Reducir**, al máximo el número de ellos y, por ende, el total de animales utilizados en investigación.
- **Reemplazar**, siempre que sea posible el animal de experimentación por otro modelo experimental, cuando no resulte imprescindible el uso de animales.
- **Refinar**, los métodos y técnicas utilizados de modo que produzcan al animal el menor sufrimiento posible.

Los principios siguientes incluyen las sugerencias de miembros de las comunidades que trabajan en las áreas de las ciencias y del bienestar animal, además de las organizaciones representadas en el Consejo. Dichos principios se deberían aplicar conjuntamente con los expuestos en el Manual sobre el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación del Consejo Canadiense de Protección de los Animales (CCPA).

1.- Si se deben utilizar animales, ellos deberían ser mantenidos en condiciones que aseguren su bienestar físico y psicológico, según la política del CCPA sobre las necesidades sociales y comportamentales de los animales de experimentación.

2.- Los animales no se deben someter a angustia o dolor innecesarios. La técnica experimental debe asegurarles toda la protección posible, ya sea para investigación, enseñanza o para pruebas; el costo y la conveniencia no deben tener precedencia sobre el bienestar físico y mental del animal.

3.- Si el dolor o la angustia son necesariamente parte del estudio, se deben minimizar tanto en intensidad como en su duración. Los investigadores, los comités de protección de los animales, los comités de revisión de subsidios y los jueces deben ser especialmente cuidadosos en su evaluación de los proyectos de uso animal en los siguientes procedimientos:

- a)** Experimentos que involucren la privación de medicamentos que alivian el dolor pre o postoperatorio.
- b)** Experimentos donde el animal está paralizado o inmovilizado sin reducción en la sensación de dolor.
- c)** Impulsos eléctricos utilizados como refuerzo negativo.
- d)** Condiciones ambientales extremas tales como temperaturas bajas o altas, humedad alta, atmósfera modificada, etc., o cambios bruscos de estas condiciones.

e) Experimentos sobre la angustia y el dolor.

f) Experimentos que requieran la privación de alimentos y agua por períodos incompatibles con las necesidades fisiológicas específicas de las especies; tales experimentos no deberían ser perjudiciales para la salud de los animales.

4.- Un animal en estado de dolor severo que no puede ser aliviado debería ser inmediatamente destruido, usando un método que produzca una inconsciencia rápida.

5.- Mientras que los procedimientos sin recuperación que involucren animales anestesiados, y los estudios que no causan dolor o angustia se consideran aceptables, los procedimientos experimentales siguientes infligen un dolor excesivo y por lo tanto son inaceptables:

a) Utilización de relajantes musculares o de paralizantes (curare y similares) solos, sin anestesia, durante los procedimientos quirúrgicos.

b) Procedimientos traumatizantes que involucren aplastar, quemar, herir o golpear animales no anestesiados.

6.- Los experimentos dolorosos o la repetición de operaciones traumatizantes sobre un animal, realizadas únicamente con fines de enseñanza o para la demostración de conocimientos científicos establecidos, no puede justificarse. Los medios audiovisuales u otras técnicas alternativas deberían ser empleados para transmitir este tipo de información. (Canadian Journal of Comparative Medicine – Veterinary Research, 1998)

GLOSARIO DE TÉRMINOS

- **Absorción:** En farmacología, el movimiento de una droga hacia el torrente sanguíneo.
- **Adsorción:** La adsorción es un proceso por el cual átomos, iones o moléculas son atrapadas o retenidas.
- **Aflatoxinas:** Son metabolitos secundarios producidos por *Aspergillus flavus* que pertenecen al grupo de las micotoxinas.
- **Acidosis Metabólica:** Es una afección en la cual hay demasiado ácido en los líquidos corporales, causada por que el cuerpo produce demasiado ácido o cuando los riñones no están eliminando suficiente ácido del cuerpo.
- **Alcalosis Respiratoria:** Es una afección marcada por bajos niveles de dióxido de carbono en la sangre debido a la respiración excesiva, causada por Ansiedad, Fiebre, Hiperventilación; Cualquier enfermedad pulmonar que lleve a la dificultad para respirar también puede ocasionar alcalosis respiratoria.
- **Apoptosis:** Es una forma de muerte celular, que está regulada genéticamente. Cuando una célula muere por apoptosis, empaqueta su contenido citoplasmático, lo que evita que se produzca la respuesta inflamatoria característica de la muerte accidental o necrosis.
- **Autoanticuerpos:** Es un anticuerpo desarrollado por el sistema inmunitario que actúa directamente en contra de uno o más antígenos del propio individuo.
- **Biodisponibilidad:** Es el porcentaje de fármaco que aparece en plasma. De esta forma, la concentración plasmática del fármaco adquiere el valor máximo posible.

- **Cirrosis:** Es la cicatrización y el funcionamiento deficiente del hígado: la fase final de la enfermedad hepática crónica.
- **Citoprotector:** Son un grupo de fármacos que tienen la capacidad de proteger la mucosa gastro-intestinal de la acción del entorno ácido y enzimas digestivas. Por otra parte, reciben el nombre de citoprotectores las sustancias que protegen las células del organismo frente a los efectos dañinos del estrés oxidativo provocado por radiación ionizante o quimioterapia.
- **Degeneración Balonizante:** Es una alteración de las células que consiste en edema intracelular y se traduce por su aumento de tamaño, forma redondeada, eosinofilia del citoplasma, pérdida de los puentes de unión y a veces , rotura de la membrana.
- **Distensión Gástrica:** La hinchazón o distensión es cuando el área del estómago es mayor de lo normal, frecuencia es provocada por comer en exceso más que por una enfermedad grave.
- **Dosis:** Cantidad de principio activo de un medicamento, expresado en unidades de volumen o peso por unidad de toma en función de la presentación, que se administrará de una vez.
- **Droga:** Nombre genérico de ciertas sustancias minerales, vegetales o animales que se emplean en la medicina, industria o en las bellas artes.
- **Efecto:** Resultado de una acción.
- **Enfermedad de Wilson:** Es un trastorno hereditario en el cual hay demasiado cobre en los tejidos corporales. El exceso de cobre causa daño al hígado y al sistema nervioso.
- **Esofagitis:** Es un término general para cualquier inflamación, irritación o hinchazón del esófago, el tubo que va desde la parte posterior de la boca hasta el estómago.

- **Esteatosis:** Es la acumulación anormal de grasa. Se presentan usualmente en forma de triglicéridos, en el citoplasma de células parenquimatosas, como por ejemplo en los hepatocitos.
- **Extracto:** Producto de la extracción de una droga vegetal, generalmente con solventes.
- **Fibrosis:** Es la formación o desarrollo en exceso de tejido conectivo fibroso en un órgano o tejido como consecuencia de un proceso reparativo o reactivo. La fibrosis se produce por un proceso inflamatorio crónico.
- **Flavonoides:** Son una serie de metabolitos secundarios de las plantas se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua.
- **Gastritis:** La gastritis ocurre cuando el revestimiento del estómago resulta hinchado o inflamado.
- **Glutación:** Es un antioxidante que ayuda a proteger a las células de los radicales libres y los peróxidos, al actuar como un donante de electrones.
- **Hepatitis:** Es una afección o enfermedad inflamatoria que afecta al hígado. Su causa puede ser infecciosa (viral, bacteriana, etc.), inmunitaria (por autoanticuerpos, hepatitis autoinmune) o tóxica (por ejemplo por alcohol, venenos o fármacos).
- **Hepatocito:** Es la célula propia del hígado y que forma su parénquima.
- **Hepatoprotector:** Que protege el hígado.
- **Hepatotoxicidad:** La propiedad o cualidad de ejercer un efecto destructivo tóxico sobre las células hepáticas.
- **Hidroalcohólico:** Mezcla de un volumen de grado de alcohol con un volumene de agua.
- **Histopatología:** Estudio de las células tisulares en estado de enfermedad.
- **Isoenzimas:** Son enzimas que difieren en la secuencia de aminoácidos, pero que catalizan la misma reacción química. Estas enzimas suelen mostrar diferentes parámetros cinéticos o propiedades de regulación diferentes.

- **Metabolito:** Sustancia producida en el transcurso de las reacciones metabólicas. En particular, productos de degradación y conjugación de los fármacos para su eliminación.
- **Mononucleosis infecciosa:** También conocida como fiebre glandular o enfermedad del beso, es una enfermedad infecciosa causada por el virus de Epstein Barr (VEB) que pertenece a la misma familia del virus del herpes
- **Necrosis:** Es la muerte de tejido corporal y ocurre cuando no está llegando suficiente sangre al tejido, ya sea por lesión, radiación o sustancias químicas. La necrosis es irreversible.
- **Pectinas:** Es una mezcla de polímeros ácidos y neutros muy ramificados. Constituyen el 30 % del peso seco de la pared celular primaria de células vegetales. En presencia de aguas forman geles. Las pectinas también proporcionan superficies cargadas que regulan el pH y el balance iónico.
- **Peroxidación Lipídica:** Hace referencia a la degradación oxidativa de los lípidos. Es el proceso a través del cual los radicales libres capturan electrones de los lípidos en las membranas celulares.
- **Radical libre:** Es una especie química extremadamente inestable con gran poder reactivo por poseer un electrón desapareado.
- **Recidivas:** Reparación de los síntomas de una enfermedad después de su desaparición. Referido a tumores, reaparición de la enfermedad después de una aparente desaparición de la misma tras un tratamiento quirúrgico o médico.
- **Síndrome de Zollinger-Ellison:** Es un padecimiento causado por un tumor que se llama gastrinoma, se localiza generalmente en el páncreas y produce altos niveles de gastrina en la sangre.
- **Sinusoides Hepáticos:** Son los vasos sanguíneos sinusoidales que se encuentran en el hígado, con endotelio discontinuo y fenestrado, que sirve como localización de la sangre rica en oxígeno que viene de la arteria hepática y de la sangre rica en nutriente que procede de la vena porta.

Las sinusoides están separados de los hepatocitos por el espacio de Disse, y se encuentran equipados con células de Kupffer, las cuales pueden absorber y destruir partículas foráneas, como bacterias, que entran a las sinusoides.

- **Somatostatina:** Hormona producida por las células delta del páncreas, en los islotes de Langerhans. además es secretada endócrinamente en la mucosa gastrointestinal; .sus efectos fisiológicos son: Disminuir la tasa de digestión y la absorción de nutrientes por el tracto gastrointestinal., Inhibir la secreción de glucagón e insulina, Inhibir la motilidad gástrica, duodenal y de la vesícula biliarReducir la secreción de ácido clorhídrico, pepsina, gastrina, secretina, jugo intestinal y enzimas pancreáticas, Inhibir la absorción de glucosa y triglicéridos a través de la mucosa intestinal
- **Úlcera:** Lesión circunscrita, como un cráter, de la piel o de las mucosas producida por la necrosis asociada algunos procesos inflamatorios, infecciosos o malignos.
- **Úlcera Péptica:** es toda lesión con forma crateriforme al perderse parte del tejido y con escasa o nula tendencia a la cicatrización que afecta la mucosa que recubre el estómago o el duodeno.
- **Vida Media de Eliminación:** La semivida de eliminación de un medicamento en sangre es el tiempo que tarda en eliminarse el 50% de la concentración plasmática alcanzada por una dosis del mismo, es decir, el lapso necesario para que la cantidad de agente presente en el cuerpo (o en el plasma sanguíneo) se reduzca a la mitad, mediante diversos procesos de eliminación.
- **Xenobiótico:** Un término general para designar cualquier compuesto orgánico ajeno al organismo que es administrado como medicamento o para ejercer algún otro efecto.

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1. MATERIAL BOTÁNICO

Hojas de *Plantago major* L. (Llantén), fueron recolectadas en bolsas de papel kraft, en la localidad de Urubamba, ubicada al norte de la ciudad del Cusco a 2,871 m.s.n.m.

3.1.2. MATERIAL BIOLÓGICO

Ratas albinas machos especies *Rattus novegicus*/cepa Holtzman (Anexo N° 02).

3.1.3. MATERIALES DE VIDRIO

- Baguetas
- Embudo
- Lupa
- Matraz Erlen Meyer 100 ml
- Pipeta de 1, 5 y 10 ml
- Placas Petri

- Probeta de 50 y 100 ml
- Tubos de ensayo de 5, 10 y 30 ml
- Tubos de ensayo con tapa rosca de 10 ml
- Frascos ámbar
- Fiolas de 10, 25, 50, 100 y 500 ml
- Vasos de precipitado de 50 y 100 ml

3.1.4. MATERIAL DE CAMPO

- Bolsas transparentes de polietileno
- Papel kraft
- Cinta Masking
- Tijeras
- Plumón indeleble
- Cámara fotográfica
- Cartón prensado
- Engrapador

3.1.5. EQUIPO

- Balanza analítica sensible a 0.01g SARTORIUS GMBM GOH Ingen Germany
- Baño María PRECISTERM S-140
- Cocina eléctrica AVTECSA

- Gradilla
- Espectrofotómetro UV visible EVOLUTION 300
- Molino de granos
- Estufa MEMERT
- Equipo de disección
- Centrífuga D-78532 TUTTLINGEN
- Refrigeradora
- Vernier
- Micropipeta automática HETTICH
- Campana extractora

3.1.6. REACTIVOS

3.1.6.1. Reactivos para la prueba de Solubilidad

- Agua estéril
- Etanol 40, 50, 70 y 90%
- Metanol Q.P
- Éter de petróleo Q.P
- Cloroformo Q.P
- Benceno Q.P
- Acetato de etilo Q.P

- Acetona Q.P
- Hexano Q.P
- Éter etílico Q.P
- Bencina Q.P

3.1.6.2. Reactivos para la Identificación de Metabolitos Secundarios

- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Amoniacó
- Hidróxido de sodio 1%, 5%
- Limaduras de Magnesio
- Acido clorhídrico 1%, 5%
- Reactivo de Benedict
- Reactivo de Liebermann - Burchard
- Ninhidrina
- Cloruro férrico
- Reactivo de Shinoda
- Reactivo de Borntrager

3.1.6.3. Reactivos para el Efecto Citoprotector Gástrico

- Alcohol etílico de 70° y 96°

- Cloruro de Sodio al 0.9%
- Formaldehido

3.1.6.4. Reactivos para el Efecto Hepatoprotector

- Tetracloruro de Carbono
- Formaldehido
- Reactivo para la determinación de Transaminasa Glutámico Pirúvica (TGP)
- Reactivo para la determinación de Transaminasa Glutámico Oxalacética (TGO)
- Reactivo para la determinación de Fosfatasa Alcalina (FA)
- Reactivo para la determinación de Bilirrubinas

3.1.7. FÁRMACOS UTILIZADOS

- Sucralfato
- Omeprazol
- Silimarina

3.1.8. OTROS

- Papel filtro
- Bisturí
- Punteras 50, 100µl
- Algodón

- Gradillas
- Jeringas descartables de 1, 5, 10 y 20 ml
- Jaulas para animales de experimentación
- Alimentación balanceada
- Guantes descartables
- Barbijos
- Plancha de tecnopor
- Alfileres
- Lupa

3.2. METODOLOGIA

3.2.1. NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

Con el objetivo de evaluar el efecto citoprotector gástrico y hepatoprotector del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major L.* se realizó un estudio cuasi experimental de series cronológicas con repetición del estímulo y diseño con un grupo control y sin pre prueba.

La investigación del efecto citoprotector gástrico y hepatoprotector es cuasi experimental porque se cuenta con un grupo control y los animales de experimentación no se asignaron al azar, ya que los grupos ya estaban formados antes del experimento.

3.2.2. TIEMPO DE EJECUCIÓN

El trabajo de investigación fue ejecutado durante los meses de enero a setiembre del presente año.

3.2.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

3.2.3.1. PARA EL EFECTO CITOPROTECTOR GÁSTRICO DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE *Plantago major* L.

G ₁	X ₁	O ₁
G ₂	X ₂	O ₂
G ₃	X ₃	O ₃
G ₄	X ₄	O ₄
G ₅	X ₅	O ₅

Donde:

G₁: Grupo I: Control (suero fisiológico), 1mL

G₂: Grupo II: Sucralfato (400mg/kg)

G₃: Grupo III: Omeprazol (20mg/kg)

G₄: Grupo IV: *Plantago major* L. 600mg/kg

G₅: Grupo V: *Plantago major* L. 800mg/kg

X₁: Control (suero fisiológico), 1mL

X₂: Sucralfato 400mg/kg

X₃: Omeprazol (20mg/kg)

X₄: *Plantago major* L. 600mg/kg

X₅: *Plantago major* L. 800mg/kg

O_n: Grado de inhibición de úlceras producidas

Grado de lesión gástrica

3.2.3.2. PARA EL EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE *Plantago major* L.

G ₁	X ₁	---	X ₁	---	X ₁	---	X ₁	O ₁
G ₂	X ₂	---	X ₂	---	X ₂	---	X ₂	O ₂
G ₃	X ₃	---	X ₃	---	X ₃	---	X ₃	O ₃
G ₄	X ₄	---	X ₄	---	X ₄	---	X ₄	O ₄
G ₅	X ₅	---	X ₅	---	X ₅	---	X ₅	O ₅
G ₆	X ₆	---	X ₆	---	X ₆	---	X ₆	O ₆

Donde:

G₁: Grupo I: Control (suero fisiológico), 1mL

G₂: Grupo II: CCl₄ (0.5ml/kg)

G₃: Grupo III: Silimarina (100mg/kg)

G₄: Grupo IV: *Plantago major* L. 400mg/kg

G₅: Grupo V: *Plantago major* L. 600mg/kg

G₆: Grupo VI: *Plantago major* L. 800mg/kg

X₁: Tratamiento Grupo I: Control (1ml)

X₂: Tratamiento Grupo II: CCl₄ (0.5ml/kg)

X₃: Tratamiento Grupo III: Silimarina (100mg/kg) + CCl₄ (0.5mL/kg)

X₄: Tratamiento Grupo IV: *Plantago major* L. 400mg/kg + CCl₄ (0.5mL/kg)

X₅: Tratamiento Grupo V: *Plantago major* L. 600mg/kg + CCl₄ (0.5mL/kg)

X₆: Tratamiento Grupo VI: *Plantago major* L. 800mg/kg + CCl₄ (0.5mL/kg)

O_n: Medición de:

Concentración de transaminasa glutámico pirúvica (suero)

Concentración de transaminasa glutámico oxalacética (suero)

Concentración de fosfatasa alcalina (suero)

Concentración de bilirrubinas (suero)

Grado de lesión hepática

3.2.4. VARIABLES

3.2.4.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

A) Dosis del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. “llantén”.

Definición conceptual: Cantidad de extracto de *Plantago major* L. (llantén) expresado en unidades de volumen o peso por unidad de toma. (Diccionario Mosby, 2008)

Definición operacional:

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Directa

Escala: Razón

Instrumento de medición: Balanza analítica

Indicador: Cantidad de extracto calculado según el peso de cada uno de los animales de experimentación

Procedimiento de medición: La dosis del extracto a administrar se obtendrá pesando al animal de experimentación para la determinación del efecto citoprotector gástrico y hepatoprotector.

Expresión de variable: mg de extracto por kg de peso de rata.

3.2.4.2. VARIABLES DEPENDIENTES

A) Efecto citoprotector gástrico del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (llantén)

Definición conceptual: Se define como efecto citoprotector al mecanismo de la defensa de la mucosa gástrica, sea por recubrimiento, inhibición de la secreción ácida o aumento del pH (CYTED, 1995), que ejerce el extracto de *Plantago major* L. (llantén).

Definición operacional:

Indicadores:

1.- Bandas hemorrágicas presentes en la mucosa gástrica

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Directa

Escala: Ordinal

Instrumento de medición: Regla milimetrada

Expresión final: Número de úlceras gástricas producidas expresado en porcentaje de inhibición ulcerosa (0-100%).

2.- Grado de lesión de la mucosa gástrica (Cambios Histológicos)

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Directa

Escala: Razón

Instrumento de medición: Microscopio

Expresión final: Grado de lesión según criterio de Lacy e Itto (0-3).

B) Efecto hepatoprotector del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (llantén)

Definición conceptual: Es la actividad responsable de la protección hepática para la preservación, conservación y funcionalidad del tejido hepático (Cascales M., 1999) del extracto de *Plantago major* L. (llantén).

Definición operacional:

Indicadores:

1.- Concentración de Transaminasas en sangre UI/L

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Indirecta

Escala: Razón

Instrumento de medición: Espectrofotómetro

Expresión de variable: UI de transaminasas/L de sangre.

2.- Concentración de Fosfatasa Alcalina en sangre UI/L

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Indirecta

Escala: Razón

Instrumento de medición: Espectrofotómetro

Expresión de variable: UI de fosfatasa alcalina/L de sangre.

3.- Concentración de Bilirrubina Total, Directa e Indirecta en sangre mg/dl

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Indirecta

Escala: Razón

Instrumento de medición: Espectrofotómetro

Expresión de variable: mg Bilirrubina Total, Directa e Indirecta/dl de sangre.

4.- Determinación del grado de lesión del tejido hepático

Naturaleza: Cualitativa

Forma de medición: Directa

Escala: Razón

Instrumento de medición: Microscopio

Expresión de variable: Grado de lesión hepática e identificación de signos de edema, congestión, infiltración grasa (esteatosis), necrosis en el parénquima, inflamación y presencia de hepatocitos reactivos; en una escala del cero al tres.

CUADRO N° 13: Grado de Lesión Hepática

LESIÓN HEPÁTICA	ASPECTO MICROSCOPICO
0	Ausencia de signos de lesión hepática.
1	Leve presencia de edema, congestión, esteatosis, necrosis, inflamación y hepatocitos reactivos.
2	Moderada presencia de signos de lesión hepática.
3	Severa presencia de signos de lesión hepática.

Fuente: Elaboración propia.

3.2.4.3. VARIABLES INTERVINIENTES

Del Animal:

Especie: Ratas albinas cepa Holtzman.

Edad del animal: Variable sujeto entre 90-120 días

Sexo: Variable de sujeto con escala nominal: macho/hembra

Peso: Variable de sujeto con escala de medición ordinal: entre 250+/-20g.

3.2.5. CRITERIOS DE SELECCIÓN

3.2.5.1. DE LA MUESTRA VEGETAL

- **Criterios de inclusión**

Se recolectaron todas aquellas hojas de *Plantago major* L. en etapa de floración de aproximadamente 20 a 40cm de longitud, libres de hongos, polvo e insectos. Así mismo las plantas alejadas de campos de cultivo por posible contaminación con insecticidas.

- **Criterios de exclusión**

Se excluyeron las hojas de *Plantago major* L. que presentaron las partes aéreas dañadas o contaminadas con polvo, hongos, bacterias, manchas, etc.

3.2.5.2. DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

- **Criterios de inclusión**

Se incluyeron ratas albinas macho de la raza Holtzman de tres meses de edad con peso promedio de 250g completamente sanos.

- **Criterios de exclusión**

Se excluyeron ratas albinas macho Holtzman de bajo peso o sobrepasen el margen establecido, con alguna enfermedad y las ratas hembras por presentar variaciones hormonales.

3.2.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Las técnicas e instrumentos para la recolección de datos utilizados fueron las siguientes:

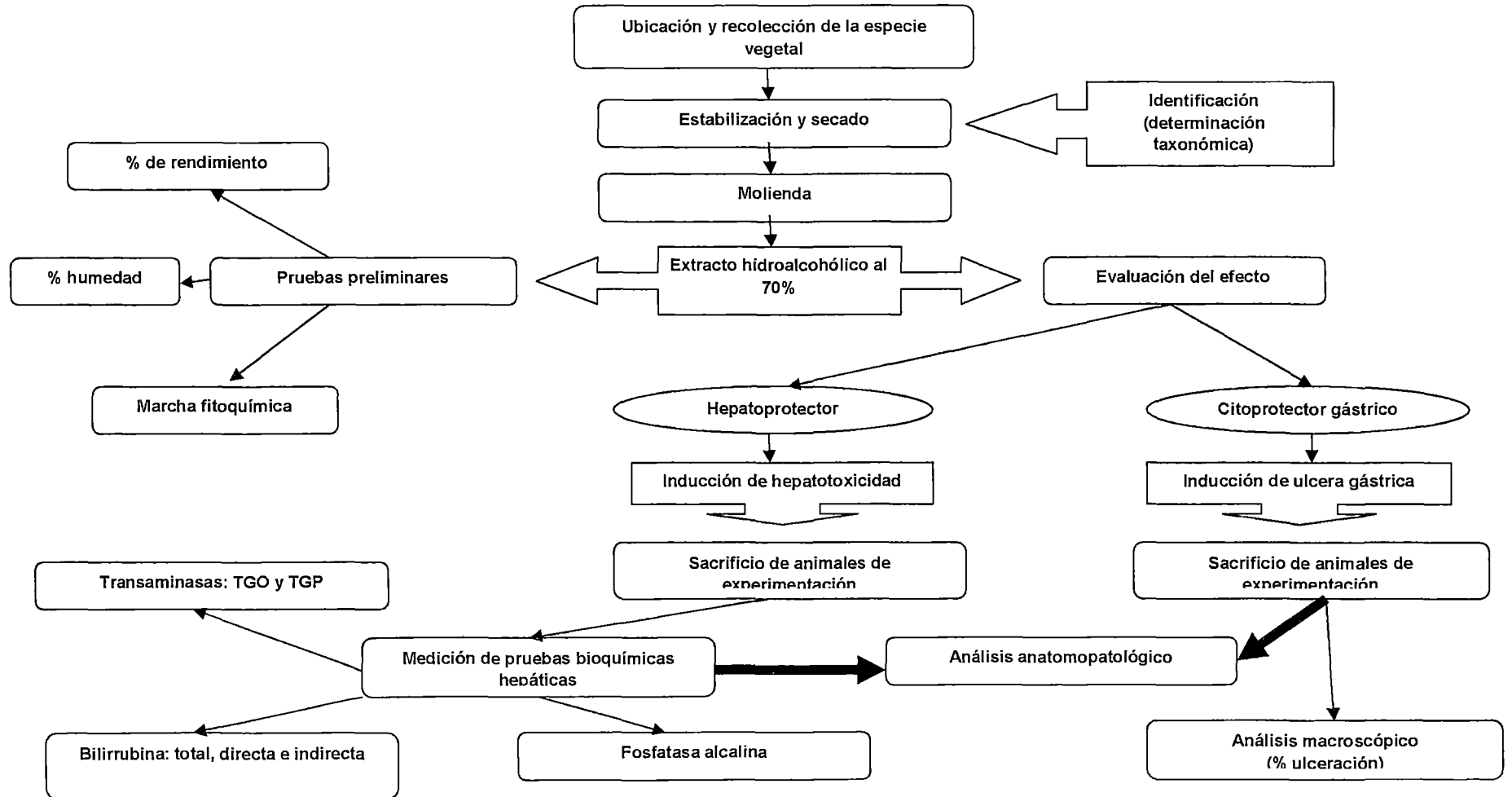
- Para la prueba de solubilidad: los datos se recolectaron mediante la técnica de observación en el laboratorio, y el instrumento utilizado fue la ficha estructurada para la recolección de datos de las pruebas de solubilidad. (Anexo N° 03).
- Para el análisis fitoquímico cualitativo: los datos se recolectaron mediante la técnica de observación en el laboratorio; y el instrumento utilizado fue la ficha estructurada para la recolección de datos del análisis fitoquímico cualitativo. (Anexo N° 04).
- Para la determinación del efecto citoprotector gástrico: los datos se recolectaron mediante la técnica de observación en el laboratorio, y los instrumentos utilizados fueron el Vernier, el microscopio electrónico y las fichas estructuradas para la recolección de datos de la evaluación del efecto citoprotector gástrico. (Anexo N° 05 y N° 06)
- Para la determinación del efecto hepatoprotector: los datos se recolectaron mediante la técnica de observación en el laboratorio, los instrumentos utilizados fueron el espectrofotómetro, el microscopio electrónico y las fichas estructuradas para la recolección de datos de la evaluación del efecto hepatoprotector. (Anexo N° 07 y N° 08).

3.2.7. TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos en la evaluación del efecto citoprotector gástrico y hepatoprotector, fueron procesados mediante el paquete estadístico SPSS.13.0 (Statistical Package for Social Science).

3.3. PROCEDIMIENTO

FLUJOGRAMA N° 1: ESQUEMA DE LA INVESTIGACION



Fuente: Elaboración propia.

3.3.1. DE LAS PRUEBAS PRELIMINARES

3.3.1.1. MUESTREO Y PREPARACIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES

- **Recolección**

La especie vegetal *Plantago major* L. se recolectó en la localidad de Urubamba, en época de verano en los meses de enero y febrero, en bolsas de papel Kraft durante las primeras horas de la mañana, agregándoles etanol para estabilizar los metabolitos secundarios.

- **Selección**

El material de esta especie fue cuidadosamente seleccionado, tomando en cuenta que las hojas de la especie vegetal estén enteras y libres de partículas de polvo, manchas, insectos u hongos.

- **Secado**

Las muestras fueron sometidas a un proceso de secado sobre papel kraft en un área ventilada y sombreada a temperatura ambiente por un período de 15 días. Obtenidas las muestras secas se realizó la molienda en un molino de granos.

- **Obtención del extracto seco hidroalcohólico**

El material seco y molido de las hojas de *Plantago major* L. (Llantén) se sometió a un proceso de extracción hidroalcohólica, con etanol al 70% durante un período de 15 días con agitación constante, a temperatura ambiente en un frasco de color ambar. Luego se concentró el extracto eliminando el solvente de extracción en Baño María a 37°C.

3.3.1.2. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD

La determinación del porcentaje de humedad se realizó por triplicado, en placas petri con muestra fresca trozada, las cuales fueron introducidas a la estufa a una temperatura de 110 °C hasta conseguir un peso constante para luego determinar el porcentaje de humedad mediante la siguiente fórmula:

$$\%H = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100$$

Donde:

% H = Porcentaje de humedad

M₁ = Peso de muestra fresca

M₂ = Peso de muestra seca

3.3.1.3. PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

El porcentaje de rendimiento de extracción de la especie vegetal se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Donde:

% E = Porcentaje de rendimiento

Pf = Peso final (extracto seco)

Pi = Peso inicial (muestra molida)

3.3.1.4. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

Para la realización de las pruebas de solubilidad, el extracto seco hidroalcohólico de la especie vegetal a estudiar se colocó en diferentes tubos de ensayo y luego se les añadió solventes de diferentes polaridades, ordenados en forma descendente del más polar al menos polar, para así determinar la naturaleza disolutiva de los extractos a temperatura ambiente y a 37°C.

CUADRO N° 14: Solventes para las Pruebas de Solubilidad

Agua destilada	Acetona
Metanol	Cloroformo
Etanol al 40%	Éter etílico
Etanol al 50%	Benceno
Etanol al 70%	Hexano
Etanol al 90%	Éter de petróleo
Acetato de etilo	Bencina

Fuente: Elaboración propia.

3.3.1.5. ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

Para la realización de la marcha fitoquímica se utilizó reacciones de coloración que determinó la presencia de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de la especie *Plantago major* L. como se muestra a continuación:

CUADRO N° 15: Pruebas del Análisis Fitoquímico Cualitativo

METABOLITO SECUNDARIO	REACTIVO
Azucares reductores	Benedict
Glucósidos	Benedict Modificado
Aminoácidos	Ninhidrina
Flavonoides	Shinoda, Amoniaco
Compuestos fenólicos	Cloruro Férrico
Alcaloides	Drangerdorff y Mayer
Taninos	Gelatina-sal
Saponinas	Acido sulfúrico
Triterpenoides	Liebermann – Burchard
Esteroides	Liebermann – Burchard
Quinonas	Bomtrager

Fuente: Elaboración propia.

3.3.1.6. ESTUDIO FARMACOLÓGICO

A) DETERMINACIÓN DEL EFECTO CITOPROTECTOR GÁSTRICO

Protocolo experimental de la úlcera gástrica aguda producida por etanol al 96°. (Alvarez A. y Col. 1998)

Se trabajó con una muestra de 30 ratas machos de la raza Holtzman de tres meses de edad con peso promedio de 250g.

- **Descripción de la técnica**

El material biológico se distribuyó aleatoriamente en 5 grupos de 6 animales cada uno:

CUADRO N° 16: Esquema experimental para el Efecto Citoprotector Gástrico

Grupo	N° de animales	Tratamiento	Vía de administración	Dosis
G1 Control	6	Suero fisiológico	Oral	---
G2 Patrón I	6	Sucralfato	Oral	400 mg/kg
G3 Patrón II	6	Omeprazol	Oral	20mg/kg
G4 Extracto I	6	Extracto I	Oral	600 mg/kg
G5 Extracto II	6	Extracto II	Oral	800 mg/kg

Fuente: Las dosis del extracto fueron elegidas de acuerdo a la investigación de TOXICIDAD SUB-CRÓNICA Y PRUEBA DE IRRITABILIDAD OCULAR DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE *Plantago major* L. (PLANTAGINACEAE) - REVISTA DE BIOLOGIA TROPICAL, 2003.

Después de 60 minutos de la administración del extracto de *Plantago major* L. (Llantén), patrones (Sucralfato y Omeprazol) y control (suero fisiológico) se administró etanol al 96° por vía oral en una dosis de 1mL a cada uno de los animales de experimentación.

Transcurrida 1 hora después de la administración del etanol al 96° se procedió a anestésiar a los animales en atmosfera de cloroformo, para la extracción de los estómagos.

- **Aislamiento del estómago**

Una vez realizada la incisión por la línea media abdominal, se extrajo el estómago cuidadosamente. Luego se procedió a abrirlo por una incisión longitudinal a lo largo de la curvatura mayor, se limpió el contenido gástrico bajo un delgado chorro de solución fisiológica procedente de una jeringa.

Finalmente se extendió el estómago sobre una plancha de tecnopor, sujetando los extremos con la ayuda de alfileres para luego realizar las observaciones y cuantificación de las úlceras formadas, procediendo luego a su valoración.

- **Escalas de medición**

- 1.- Porcentaje de inhibición ulcerogénica**

El recuento se efectuó visualmente, utilizando una lupa, midiendo la longitud de cada una de las lesiones y sumándolas. El grado de ulceración se expresa como el total de milímetros contados. Cuando la úlcera es puntiforme se considerará una longitud de 0.5mm.

Los resultados se expresan en porcentaje de inhibición respecto al índice de ulceración del lote de control, según la siguiente expresión:

$$\%IU = \frac{I.U.c - I.U.p}{I.U.c} \times 100$$

Donde:

%I.U.c = Porcentaje de inhibición ulcerogénica.

I.U.c = Índice de ulceración medio del lote control.

I.U.p = Índice de ulceración medio del lote problema o patrón.

En el presente diseño cuasiexperimental se determinó el grado de protección de la mucosa gástrica, mediante el índice de inhibición ulcerogénica, y el estudio histopatológico del estómago de las ratas.

2.- Estudio histopatológico

El estudio histopatológico de los estómagos se realizó en el Laboratorio de Citología e Histología del Hospital Regional – Cusco, dirigida por la Dra. Valmi Miriam Luna Flores, donde se realizó la inclusión de las muestras en parafina, realizando cortes con un micrótopo y la tinción con hematoxilina-eosina, para su observación microscópica a 4x0.10, 10x0.25 y 40x0.65.

Evaluación microscópica según la escala de Lacy e Itto

Consiste en la evaluación de la profundidad del daño utilizando una escala de puntuación que oscila entre el grado cero y tres.

Grado 0: Todas las células de la mucosa gástrica aparecen intactas y tienen formas, situación, apariencia y densidad normal, las células de la superficie son columnares con cantidades de gránulos de la mucosa apical, las fositas gástricas se observan profundas y las glándulas gástricas comprenden células intactas del cuello parietal, principal y enteroendocrinas.

Grado 1: Las células del epitelio de la superficie se presentan vacuoladas con el citoplasma levemente coloreado, algunas células exfoliadas están presentes. Las células de la fosita gástrica están sin daño.

Grado 2: Se observa el daño extenso de las células de la superficie, las células de la fosita gástrica también fueron dañadas y exfoliadas, las glándulas gástricas no tiene daño.

Grado3: Aparte del daño de la superficie y de la fosita gástrica, el daño se hace evidente en la glándula gástrica, las células parietales con citoplasma

translúcido menos coloreado, se observan numerosas células exfoliadas y estratos completos del epitelio superficial necrotizante.

CUADRO N°17: Escala Microscópica de Lacy e Itto.

GRADO DE PROFUNDIDAD	ASPECTO MICROSCOPICO
Grado 0	Sin daño celular.
Grado 1	Daño celular del epitelio de superficie.
Grado 2	Daño celular del epitelio de superficie y de la fosita gástrica.
Grado 3	Daño celular desde el epitelio de superficie hasta las glándulas gástricas.

Fuente: Huillca D., 2002.

B) DETERMINACIÓN DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR

Protocolo experimental de inducción de la hepatotoxicidad por Tetracloruro de Carbono

Para evaluar la actividad hepatoprotectora se usaron los extractos secos hidroalcohólicos de la especie vegetal. Las dosis utilizadas fueron establecidas de acuerdo a la investigación de Toxicidad Sub-Crónica y Prueba de Irritabilidad Ocular del Extracto Acuoso de las Hojas de *Plantago major* L. (Plantaginaceae) - Revista de Biología Tropical, 2003. La lesión hepática experimental se indujo durante 5 semanas con la administración de CCl₄ por vía intraperitoneal, según lo descrito por Recknagel.

En este modelo experimental se utilizaron ratas albinas macho raza Holtzman con un peso inicial entre 250+/- 20gr, se formaron 6 grupos cada uno conformado por 6 ratas. Fueron tratados durante un período total de 6 semanas. Los animales se

mantuvieron en condiciones apropiadas, así como con agua y alimentación ad libitum. Los animales de experimentación se agruparon como sigue:

CUADRO N° 18: Esquema experimental para el Efecto Hepatoprotector

N°	GRUPO	TRATAMIENTO
I	Control	Suero fisiológico (1mL)
II	CCl ₄	CCl ₄ (0.5mL/kg)
III	Silimarina	Silimarina (100mg/kg) + CCl ₄ (0.5mL/kg)
IV	Dosis de <i>Plantago major</i> L.	<i>Plantago major</i> L. (400mg/kg) + CCl ₄ (0.5mL/kg)
V	Dosis de <i>Plantago major</i> L.	<i>Plantago major</i> L. (600mg/kg) + CCl ₄ (0.5mL/kg)
VI	Dosis de <i>Plantago major</i> L.	<i>Plantago major</i> L. (800mg/kg) + CCl ₄ (0.5mL/kg)

Fuente: Elaboración propia.

Al grupo control se le administró 1mL de suero fisiológico.

Las dosis de CCl₄ administrada a los grupos II, III, IV, V, VI fueron de 0.5ml/kg de peso corporal por vía intraperitoneal administrada 2 veces por semana durante 5 semanas.

La dosis de Silimarina administrada al grupo III fue de 100mg/kg de peso corporal por vía oral, en volúmenes de 1mL, 5 días antes de la administración de CCl₄ y durante las 5 semanas (2 veces por semana), dos dosis por día: 2 horas antes y 2 horas después de CCl₄.

Las dosis de los extractos hidroalcohólicos de la especie vegetal administrada a los grupos IV, V, VI se calcularon a partir del peso de las ratas y fueron administradas por vía oral, en volúmenes de 1mL, 5 días antes de la

administración de CCl₄ y durante las 5 semanas (2 veces por semana), dos dosis por día: 2 horas antes y 2 horas después del CCl₄.

El mismo procedimiento se realizó para el grupo Silimarina. En todos los grupos los animales se sometieron a un ayuno de 24 horas antes de administrarles las sustancias de ensayo.

Después de 6 semanas de tratamiento se procedió a anestésiar a los animales en atmósfera de cloroformo. Primero se realizó una punción cardiaca para la obtención de la sangre y luego separar el suero, para el dosaje de las enzimas hepáticas (transaminasas, fosfatasa alcalina) y bilirrubinas. Posteriormente se realizó una disección de la cavidad abdominal para obtener muestras de hígado para la evaluación de daño hepático mediante el estudio histopatológico.

Evaluación del Efecto Hepatoprotector

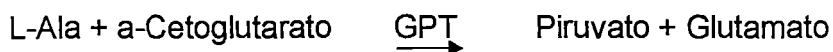
- **Protocolo para la determinación de la actividad de la GPT y GOT** (Manual Laboratorio Valtek, 2011)

Fundamento

La determinación de la transaminasa glutámico oxalacética (GOT) se basa en la siguiente reacción:



La determinación de la transaminasa glutámico pirúvica (GPT) se basa en la siguiente reacción:



El piruvato u oxaloacetato formado reacciona con la 2,4-dinitrofenilhidrazina, generando en medio alcalino una hidrazona coloreada que absorbe a 505nm.

Técnica

	Blanco	GOT	GPT
Sustrato GOT (mL)	0.5	0.5	---
Sustrato GPT (mL)	---	---	0.5
Se incubó por 3 minutos a 37°C.			
Agua destilada (mL)	0.1	---	---
Muestra – suero (mL)	---	0.2	0.1
Se incubó 30 minutos a 37°C.			
Reactivo color (mL)	0.5	0.5	0.5
Se incubó 20 minutos a temperatura ambiente (sobre 20°C).			
NaOH 0.4N (mL)	5.0	5.0	5.0
Se mezcló por inversión, y luego se procedió a leer a 505nm contra blanco reactivo. El color resultante era estable por 30 minutos.			

Para determinar la concentración de las enzimas se hizo la siguiente curva de calibración.

TUBO	1	2	3	4	5	6
Agua destilada (mL)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Estándar (mL)	---	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Sustrato GOT (mL)	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5
Reactivo color (mL)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Se mezcló e incubó 20 minutos a temperatura ambiente (20° a 25°C)						
NaOH 0.4N (mL)	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Se mezcló, se esperó 5 minutos y luego leído a 505nm, contra blanco reactivo (tubo 1).						
GOT U/L	0	22	55	95	150	215
GPT U/L	0	25	50	83	126	---
Se graficó colocando las unidades de transaminasas en las absisas (eje X), y las absorbancias en las ordenadas (eje Y).						

VALORES DE REFERENCIA

ESPECIE	TGO (AST)	TGP (ALT)
Rata	39-92 UI/L	17-50 UI/L

Fuente: Canadian Journal of Comparative Medicine – Veterinary Research, 1998. (ANEXO N° 10)

- **Protocolo para la determinación de Fosfatasa Alcalina** (Manual Laboratorio Valtek, 2011)

Fundamento

La fosfatasa alcalina actúa sobre el HMP-benzofuranona fosfato en medio tamponado alcalino. Posteriormente, al agregar el reactivo revelador, se obtiene un cromógeno azul en forma proporcional a la concentración de enzima en la muestra.



Técnica

TUBO	Blanco	Estándar	Muestra
Buffer-Sustrato (mL)	0.50	0.50	0.50
Se incubó por 3 minutos a 37°C.			
Agua destilada (mL)	0.05	---	---
Solución Standar (mL)	---	0.05	---
Muestra - suero (mL)	---	---	0.05
Se mezcló e incubó por 10 minutos a 37°C.			
Reactivo revelador (mL)	2.50	2.50	2.50
Se mezcló y luego se pasó a leer las absorbancias a 590nm.			

Los cálculos fueron hallados mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad } \left(\frac{\text{UI}}{\text{L}} \right) = \text{FACTOR} \times \text{Absorbancia muestra}$$

$$\text{factor} = \frac{100}{\text{absorbancia standar}}$$

VALORES DE REFERENCIA

ESPECIE	Fosfatasa Alcalina
Rata	39-216 UI/L

Fuente: Canadian Journal of Comparative Medicine – Veterinary Research, 1998.
(ANEXO N° 10)

- **Protocolo para la determinación de Bilirrubina** (Manual Laboratorio Valtek, 2011)

Fundamento

En medio acuoso sólo reacciona la bilirrubina conjugada o directa; los glucurónidos de bilirrubina y la bilirrubina-delta reaccionan; formándose azobilirrubina que en pH ácido presenta un peak de absorción a 530nm. Para medir la bilirrubina total es necesario la incorporación de un acelerador que es una solución acuosa de benzoato de cafeína. La azobilirrubina formada es medida fotométricamente entre 520 y 550nm, siendo la intensidad del color formado directamente proporcional a la cantidad de bilirrubina directa o total presente en la muestra.

Técnica

Tubo	Blanco	Directo	Total
Muestra - suero (mL)	0.2	0.2	0.2
Agua (mL)	2.4	2.4	---
Acelerador (mL)	---	---	2.4
Reac. Sulfanílico (mL)	0.2	---	---
Diazorreactivo	---	0.2	0.2

Se mezcló e incubó por 5 minutos a temperatura ambiente (20 a 25°C).

Luego las absorbancias fueron leídas a 530nm.

Los cálculos fueron hallados mediante la siguiente fórmula:

$$\text{FACTOR} = \frac{\text{Concentración Standar}}{\text{Abs. Standar} - \text{Abs. Blanco Standar}}$$

$$\text{Bilirrubina Directa} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}}\right) = \text{FACTOR} \times (\text{Directa} - \text{Blanco})$$

$$\text{Bilirrubina Total} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}}\right) = \text{FACTOR} \times (\text{Total} - \text{Blanco})$$

VALORES DE REFERENCIA

ESPECIE	B. TOTAL	B. DIRECTA	B. INDIRECTA
Rata	0.3-1.9 mg/dL	0-0.3 mg/dL	0.3-1.6 mg/dL

Fuente: Canadian Journal of Comparative Medicine - Veterinary Research, 1998. (ANEXO N° 10)

• PROTOCOLO PARA LA DETERMINACION DEL GRADO DE LESIÓN DEL TEJIDO HEPÁTICO

Consiste en la evaluación de la profundidad del daño hepático histológico a nivel hepático utilizando una escala de puntuación que oscila entre el grado cero y

tres para la identificación de signos de edema, congestión, infiltración grasa (esteatosis), necrosis en el parénquima, inflamación y presencia de hepatocitos reactivos.

LESIÓN HEPÁTICA	ASPECTO MICROSCOPICO
0	Ausencia de signos de lesión hepática.
1	Leve presencia de edema, congestión, esteatosis, necrosis, inflamación y hepatocitos reactivos.
2	Moderada presencia de signos de lesión hepática.
3	Severa presencia de signos de lesión hepática.

Fuente: Elaboración propia.

El estudio histopatológico hepático, se realizó en el Laboratorio de Citología e Histología del Hospital Regional – Cusco, dirigida por la Dra. Valmi Miriam Luna Flores, se practicó cortes de 0.5 x 1.0 cm de espesor, que fueron fijados en formol neutro al 10%, para inclusión en cortes de 2mm de espesor; posteriormente se efectuó cortes con micrótopo, en un espesor de 3m, para luego fueron coloreados con HE (hematoxilina-eosina) y revisados con microscopio óptico, para la identificación de signos del daño histológico a nivel hepático, se colocaron las escalas correspondientes a cada muestra.

CAPITULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. DE LAS PRUEBAS PRELIMINARES

4.1.1. PORCENTAJE DE HUMEDAD

CUADRO N° 19: Porcentaje de Humedad

Determinación del Porcentaje de Humedad	<i>Plantago major L.</i>		
	1	2	3
Peso muestra fresca (g)	10.084	10.058	10.035
Peso muestra seca (g)	1.459	1.435	1.420
Porcentaje de humedad (%)	85.53%	85.73%	85.85%
Promedio % de humedad	85.70%		

Fuente: Elaboración propia.

Análisis y Discusión

El porcentaje de humedad de *Plantago major L.* (Llantén) fue en promedio 85.70% de acuerdo al método gravimétrico, de una muestra de hojas, las pruebas se realizaron por triplicado.

El alto contenido de agua de esta planta hace importante el proceso de secado para eliminar el agua libre, porque de esta manera se interrumpen los procesos de degradación de metabolitos causados por la actividad enzimática, proliferación

bacteriana, hongos, levaduras, reacciones de oxidación y de hidrólisis. (Agapito F., 2005)

4.1.2. PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

CUADRO N° 20: Porcentaje de Rendimiento

Determinación del Porcentaje de Rendimiento	<i>Plantago major L.</i>
Peso inicial muestra molida (g)	10.015
Peso final extracto seco (g)	5.52
Porcentaje de extracción (%)	55.12%

Fuente: Elaboración propia.

Análisis y Discusión

El cuadro N° 20 muestra el porcentaje de rendimiento de *Plantago major L.* (Llantén) observándose que este fue igual a 55.12%, siendo este porcentaje favorable ya que nos permitió utilizar una menor cantidad de muestra vegetal.

4.1.3. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

CUADRO N° 21: Pruebas de Solubilidad

SOLVENTE	<i>Plantago major L.</i>	
	T° Ambiente	T° 37 °C
Agua destilada	++++	++++
Metanol	++++	++++
Etanol 40%	++++	++++
Etanol 50%	++++	++++
Etanol 70%	++++	++++
Etanol 90%	++++	++++
Acetona	++--	++--
Acetato de etilo	+---	+---
Cloroformo	+---	+---
Éter etílico	+---	+---
Benceno	----	----
Hexano	----	----
Éter de petróleo	----	----
Bencina	----	----

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda:

- ++++ : Totalmente soluble
- +++- : Parcialmente soluble
- ++-- : Poco soluble
- +--- : Muy poco soluble
- : Insoluble

Análisis y Discusión

Para la determinación de la solubilidad del extracto seco de *Plantago major L.* (Llantén), se utilizaron solventes de polaridad decreciente que permitieron deducir la naturaleza polar del extracto. El extracto *Plantago major L.* es totalmente soluble en solventes polares (agua, metanol, etanol), poco soluble en solventes

de polaridad intermedia (acetona), muy poco soluble en acetato de etilo, cloroformo y éter etílico, e insolubles en solventes apolares (hexano, benceno, éter de petróleo, bencina). Por los resultados obtenidos se eligió el agua destilada, como vehículo para la administración por vía oral.

4.1.4. ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

CUADRO N° 22: Análisis Fitoquímico Cualitativo

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVO	RESULTADOS
Glicósidos	Benedict modificado	+++
Azúcares reductores	Benedict	+++
Aminoácidos	Ninhidrina	---
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	+++
Flavonoides	Shinoda	++
	Amoniaco	++
Taninos	Acetato de plomo	+
Alcaloides	Dragendorf	+
	Mayer	+
Saponinas	Afrosimétrico	+
Triterpenoides y esteroides	Lieberman –	++
	Burchard	
Quinonas	Benedict	+

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda:

- +++ : Abundante cantidad
- ++- : Moderada cantidad
- +--- : Escasa cantidad
- : Negativo

Análisis y Discusión

El análisis fitoquímico del extracto seco de *Plantago major* L. (Llantén) determinó la presencia abundante de compuestos fenólicos, glicósidos, azúcares reductores; la presencia moderada de Flavonoides, Triterpenoides y esteroides; la presencia en escasa cantidad de quinonas, taninos, alcaloides y saponinas; y la ausencia de aminoácidos.

En la determinación de polifenoles por las coloraciones verdosas a marrón predominantes se puede inferir que se trata de derivados de catecol y en la de Flavonoides por la reacción de Shinoda se puede inferir por la predominancia de la coloración roja que se trata de flavonas y flavonoles, que se confirma con la prueba del amoniaco que da positivo para flavonas, flavonoles y chalconas por la coloración amarilla. Según bibliografía podemos corroborar la presencia de los metabolitos secundarios mencionados. (Brack E., 1999)

4.2. DE LAS PRUEBAS FARMACOLÓGICAS

4.2.1. DEL EFECTO CITOPROTECTOR GÁSTRICO DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE *Plantago major* L. (LLANTEN)

4.2.1.1. Determinación del Índice de Inhibición Ulcerogénica (% I.U.) para evaluar el Efecto Citoprotector Gástrico del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (llantén)

CUADRO N°23: Resultados del Índice de Inhibición Ulcerogénica

TOTAL DE ULCERAS PRODUCIDAS POR ESTÓMAGO					
Ratas	Control sin tratamiento	Patrón Sucralfato	Patrón Omeprazol	Dosis 600mg/kg	Dosis 800mg/kg
1	57.3	2.0	15.2	1	0
2	60.0	1.5	15.6	0	0
3	61.0	1.0	16.0	0	0
4	56.2	1.4	14.9	0	0
5	59.8	1.2	15.7	0.5	0
6	59.9	1.2	17.1	0	0
Índice de ulceración promedio	59.0	1.38	15.75	0.25	0
Porcentaje de inhibición ulcerogénica	0%	97.66%	73.31%	99.58%	100%

Fuente: Elaboración propia.

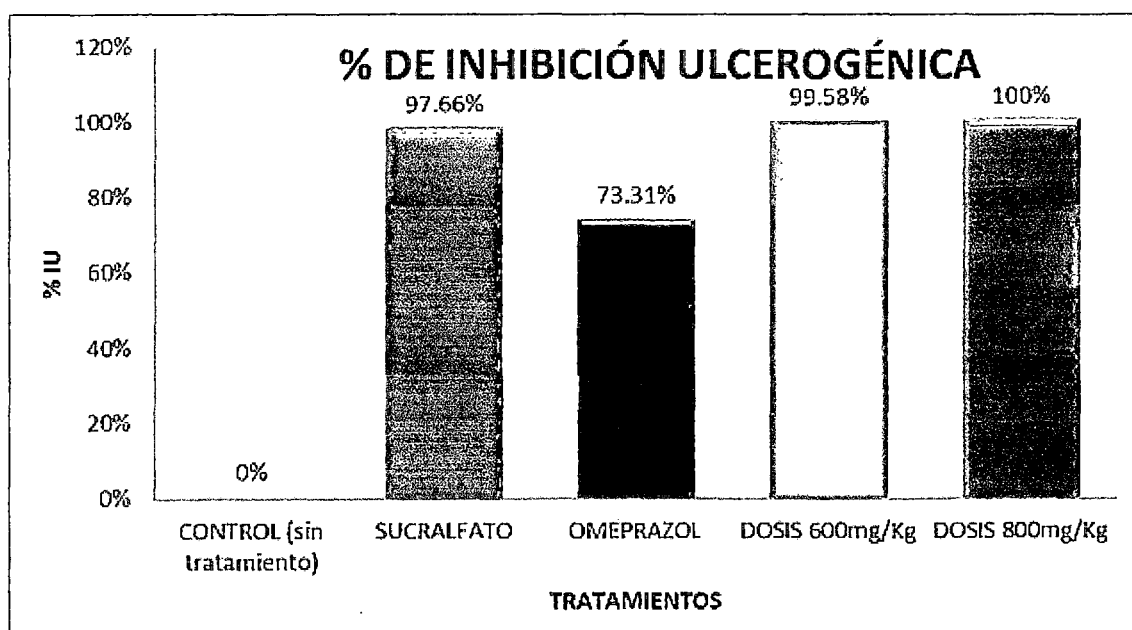


Figura N° 10: Resultados del Índice de Inhibición Ulcerogénica.

Fuente: Elaboración propia.

Análisis y Discusión

En el cuadro N° 23 y figura N° 10, se indica el grado de protección de la mucosa gástrica frente al agente ulcerogénico que produce alteración de la membrana, hipoxia, deficiencia de metabolitos esenciales, generación de intermediarios reactivos (alcohol al 96°, administrada por vía oral), se aprecia que los grupos Sucralfato y Omeprazol tienen un porcentaje de inhibición ulcerogénica de 97.66% y 73.31% respectivamente, a la dosis de 600mg/kg el porcentaje de inhibición fue de 99.58% y a la dosis de 800mg/kg el porcentaje de inhibición fue de 100%, mostrando así que el extracto de *Plantago major* L. (Llantén) presenta un excelente grado de protección de la mucosa gástrica comparado con el grupo control (sin tratamiento), donde el grado de protección fue 0% porque se observa una lesión gástrica masiva (fotografía N° 11 y N° 12 – Anexo N° 13) . Presentó incluso mejores resultados que los patrones (Omeprazol y Sucralfato). Esto se debe a la presencia de una pectina (Plantaglúcido) y flavonoides que serían los responsables de evitar la formación de úlceras gástricas por la inducción experimental en las ratas. (Caviedes F., 1993)

4.2.1.2. Determinación microscópica según la escala de Lacy e Itto del daño de la mucosa gástrica para evaluar el Efecto Citoprotector Gástrico del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (llantén)

CUADRO N° 24: Resultado del análisis microscópico según la escala de Lacy e Itto

GRADO DE LESIÓN DE LA MUCOSA GÁSTRICA					
N° de Rata	Control s/tratam.	Patrón I Sucralfato	Patrón II Omeprazol	Dosis 600mg/kg	Dosis 800mg/kg
1	3	1	2	0	0
2	3	0	1	0	0
3	3	1	2	1	0
4	2	1	2	0	0
5	3	0	2	1	0
6	3	1	1	0	0
Promedio	2.8	0.7	1.7	0.3	0

Fuente: Elaboración propia.

Análisis y discusión

En el cuadro N° 24 se observan los resultados del grado de protección gástrica obtenido en el estudio histopatológico, que presenta el extracto de *Plantago major* L. (Llantén), que según la escala de Lacy e Itto, se tiene lo siguiente:

En el grupo Control (sin tratamiento) se tiene que el promedio del grado de lesión es de 2.8 manifestando un daño máximo de la mucosa gástrica a nivel histopatológico, asignándole un grado 3 que según la escala de Lacy e Itto indica erosión epitelial extensa, vacuolización epitelial difusa con extensión a cripta gástrica y daño glandular difuso como se muestra en la fotografía N° 13 (Anexo N° 13).

En el grupo Patrón II (Omeprazol) el promedio del grado de lesión fue de 1.7 asignándole un grado 2 el cual manifiesta la presencia de células epiteliales

cilíndricas con focos de erosión superficial, con extensión focal a criptas gástricas, glándulas gástricas normales, como se muestra en la fotografía N° 14 (Anexo N° 13) y en el grupo Patrón I (Sucralfato) el promedio del grado de lesión fue de 0.7 presentando un grado 1 que manifiesta erosión epitelial leve, extensión focal a criptas gástricas, glándulas gástricas y musculares de características normales, como se muestra en la fotografía N° 15 (Anexo N° 13) viendo de esta manera que hubo una mejor protección de la mucosa gástrica con el patrón II (Sucralfato) en comparación con el patrón I (Omeprazol).

Respecto al grupo de Dosis 600 mg/Kg se obtuvo que el grado de lesión fue de 0.3 y de la Dosis 800 mg/Kg es 0, asignándole a ambos grupos un grado 0 que manifiesta la presencia de células epiteliales, criptas gástricas y glándulas gástricas bien conformadas, como se muestra en las fotografías N° 16 (Anexo N° 13).

Las dosis de extracto de *Plantago major* L. (Llantén) obtuvieron mejores resultados de protección gástrica comparadas con los patrones (Sucralfato y Omeprazol). Esto se atribuye a la presencia de los metabolitos secundarios como los flavonoides que muestran actividad gastroprotectora al activar los mecanismos de defensa por incremento de la cantidad y calidad de la mucosa gástrica, al aumentar su contenido glicoprotéico, al estimular las prostaglandinas endógenas, además pueden disminuir el jugo gástrico y su acidez por la disminución de pepsina. Así mismo la presencia de saponinas tiene acción antiulcerosa por aumento de la secreción mucoprotectora y los glucósidos porque generan una capa de protección. Por ello el extracto de *Plantago major* L. (llantén) muestra una actividad frente a la úlcera péptica reduciendo el índice de ulceración y la intensidad del daño de la mucosa gástrica. (Villar A., 1999)

4.2.2. DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR EN EL MODELO EXPERIMENTAL: HEPATOTOXICIDAD PRODUCIDA CON TETRACLORURO DE CARBONO (Anexo N° 09: Resultados del dosaje del perfil hepático: TGO, TGP, FA y bilirrubinas)

4.2.2.1. Dosaje de TGO

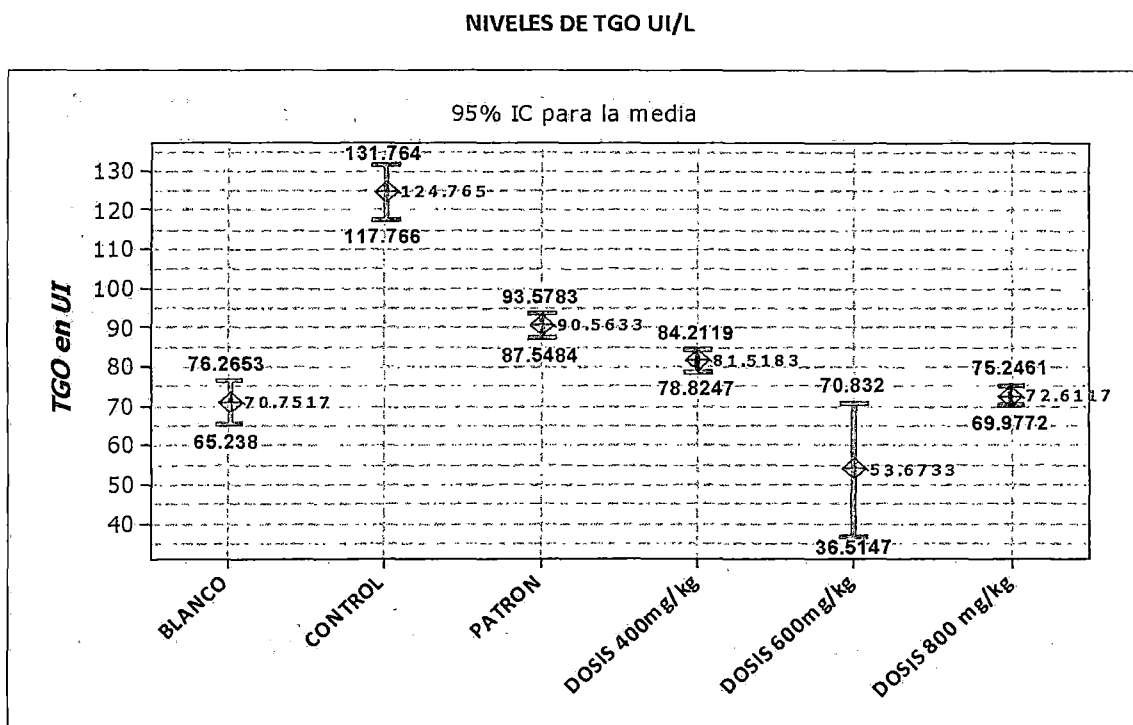


Figura N° 11: Distribución numérica de las medias de tendencia central y dispersión de la concentración de la enzima hepática TGO de acuerdo a los diferentes grupos experimentales.

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 25: Análisis estadístico de los resultados del dosaje de TGO (UI/L) en la evaluación del Efecto Hepatoprotector.

NIVEL DE ENZIMAS HEPÁTICAS TGO 39-92 UI	N° DE MEDICIÓN	PROMEDIO (en UI/L)	DESVIACION ESTÁNDAR	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95% PARA LA MEDIA	
				LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
<i>Blanco</i>	06	70,751	+/- 5,253	65,238	76,265
<i>Control</i>	06	124,765	+/- 6,668	117,766	131,763
<i>Patrón</i>	06	90,563	+/- 2,873	87,548	93,578
<i>Dosis 400mg/kg</i>	06	81,518	+/- 2,567	78,825	84,212
<i>Dosis 600mg/kg</i>	06	53,673	+/- 6,350	36,515	70,832
<i>Dosis 800mg/kg</i>	06	72,612	+/- 2,510	69,977	75,246

Fuente: Análisis estadístico.

Análisis y Discusión

En la figura N° 11 y cuadro N° 25 se observa el promedio del dosaje de la enzima hepática TGO, mediante el cual se determinó el grado de atenuación del efecto hepatotóxico. En el grupo control (tetracloruro de carbono) la actividad de la enzima está incrementada hasta en un 76.34% por arriba del grupo blanco.

De los resultados obtenidos y comparados con los valores normales (39 – 92 UI/L) (Canadian Journal of Comparative Medicine – Veterinary Research, 1998), se muestra que el grupo control (124.765 UI) es el único grupo que no está dentro de estos valores, porque están incrementados, debido a la producción de radicales libres, que dañan la membrana celular del hepatocito y produce lisis e incremento de esta enzima a nivel extracelular. (Limdi Jk, Hyde Gm., 2003)

El valor de TGO en el grupo patrón (Silimarina) fue de 90.563 UI y en el grupo dosis de 400mg/kg fue de 81.518 UI; observándose que se encuentran elevados respecto al grupo blanco (70.751 UI). Sin embargo en el grupo dosis de 800mg/kg fue de 72.612 UI siendo este valor cercano al obtenido al grupo blanco. Y en el

grupo dosis de 600mg/kg fue de 53.673 UI siendo está la mejor dosis que evidencia la atenuación del efecto hepatotóxico por encontrarse este valor por debajo del grupo blanco.

CUADRO N° 26: Prueba Post –Hoc (Post Test O Post Prueba) para determinar las diferencias de concentración de la enzima hepática TGO entre los diferentes grupos en la experimentación.

GRUPOS EXPERIMENTALES EN COMPARACIÓN SEGÚN EL PARAMETRO TGO 39-92 UI (64)		DIFERENCIA DE MEDIAS	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95% PARA LA DIFERENCIA DE MEDIAS		SIGNIFICACIÓN ASINTÓTICA (P)
			LIM. INF.	LIM. SUP.	
BLANCO	CONTROL	-54,013	-67,626	-40,40	0,000
	PATRÓN	-19,811	-33,424	-6,198	0,001
	DOSIS A 400 mg/kg	-10,766	-24,379	2,846	0,186
	DOSIS A 600 mg/kg	17,078	3,46	30,69	0,008
	DOSIS A 800 mg/kg	-1,860	-15,472	11,752	0,998
CONTROL	PATRÓN	34,201	20,588	47,814	0,000
	DOSIS A 400 mg/kg	43,246	29,633	56,859	0,000
	DOSIS A 600 mg/kg	71,091	57,478	84,704	0,000
	DOSIS A 800 mg/kg	52,153	38,54	65,766	0,000
PATRÓN	DOSIS A 400 mg/kg	9,045	4,567	22,657	0,355
	DOSIS A 600 mg/kg	36,89	23,277	50,502	0,000
	DOSIS A 800 mg/kg	17,951	4,338	31,564	0,005
DOSIS A 400 mg/kg	DOSIS A 600 mg/kg	27,845	14,232	41,457	0,000
	DOSIS A 800 mg/kg	8,906	4,706	22,519	0,371
DOSIS A 600 mg/kg	DOSIS A 800 mg/kg	-18,938	-32,551	-5,325	0,003

Fuente: Análisis estadístico.

Si $P > 0.05$ se acepta que no existe diferencia significativa en la concentración de TGO debido a los tratamientos empleados.

Si $P < 0.05$ se acepta que existe diferencia significativa en la concentración de TGO debido a los tratamientos empleados.

Análisis y Discusión

El análisis estadístico del cuadro N° 26 muestra que el valor de la dosis de 400 y 800mg/kg comparado con el del blanco no presenta una diferencia estadísticamente significativa, con un nivel de $P > 0.05$, por otra parte la dosis de 600mg/kg comparado con el del blanco presenta una diferencia estadísticamente significativa, con un nivel $P < 0.05$, esto debido a que los resultados de TGO de la dosis de 600mg/kg son inferiores en comparación con el grupo blanco.

La comparación del patrón con la dosis de 400mg/kg muestra que no existe una diferencia estadísticamente significativa, por lo que se deduce que a esta dosis existe una equivalencia con el patrón, la comparación del patrón con la dosis 600 y 800mg/kg muestra que si existe diferencia estadísticamente significativa porque muestra valores de TGO menores que la del patrón.

La dosis de 600mg/kg en comparación con el patrón y las demás dosis, presenta una mayor disminución de la concentración de la enzima TGO.

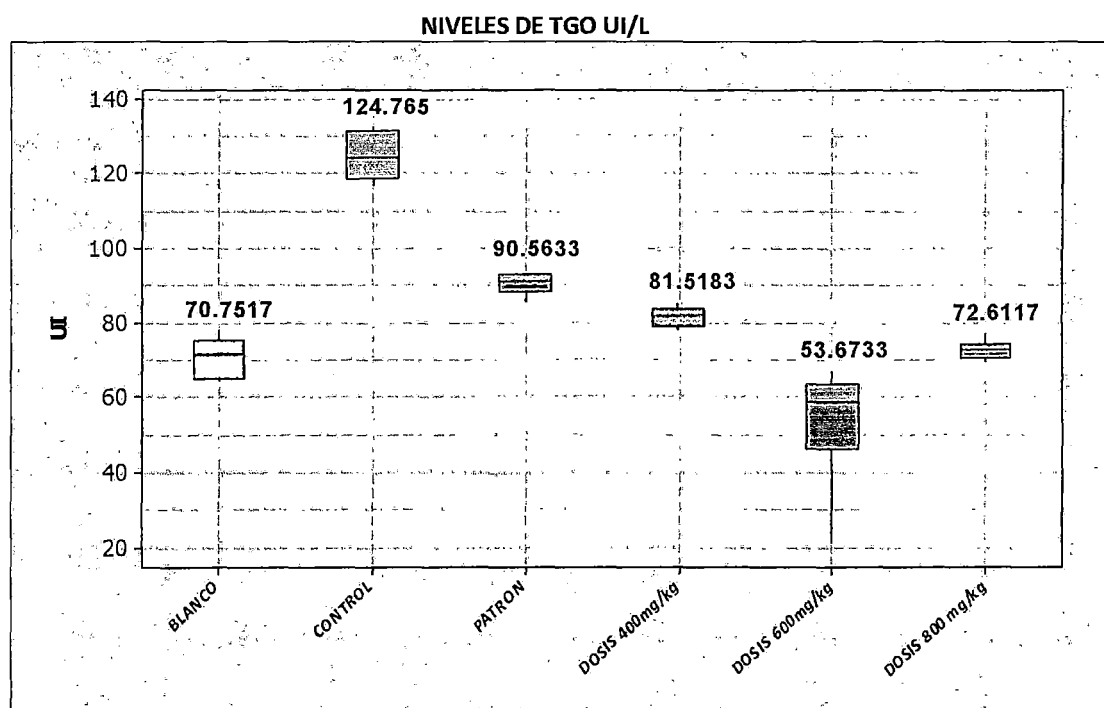


Figura N° 12: Dispersión de la concentración de la enzima hepática TGO de acuerdo a los diferentes grupos experimentales.

Fuente: Análisis estadístico.

Análisis

En la figura N° 12 podemos observar que los resultados de los grupos que recibieron como tratamiento el extracto de *Plantago major* L. (llantén) a las dosis de 400 y 800mg/kg, y del grupo patrón que recibió como tratamiento la Silimarina presentan un rango más estrecho de dispersión de valores de TGO, en comparación con el grupo de dosis del extracto a 600mg/kg donde el rango es más amplio. Esto pudo deberse a diversos factores que influyeron en la fase pre-analítica (recolección, transporte y centrifugación de las muestras, y aditivos) y en la fase analítica (control de equipos y reactivos, fluctuaciones en la temperatura y energía eléctrica, material mal lavado, agitación incorrecta, etc.)

4.2.2.2. Dosaje de TGP

NIVELES DE TGP UI/L

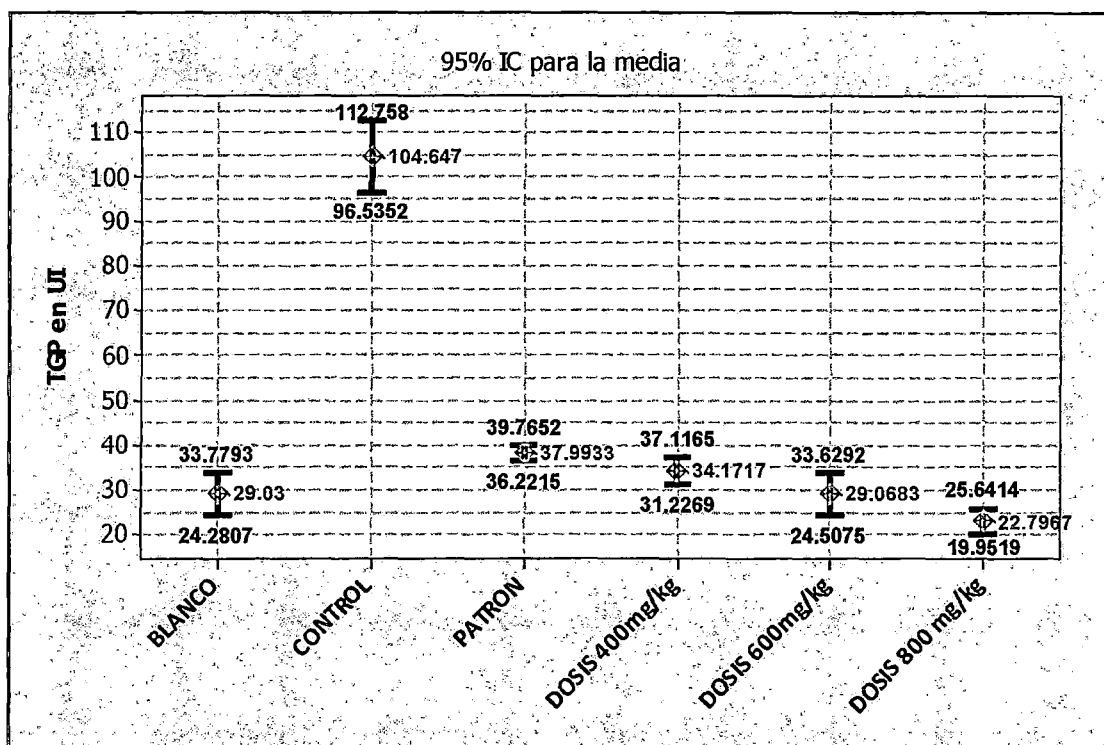


Figura N° 13: Distribución numérica de las medias de tendencia central y dispersión de la concentración de la enzima hepática TGP de acuerdo a los diferentes grupos experimentales.

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 27: Análisis Estadístico de los resultados del dosaje de TGP (UI/L) en la evaluación del Efecto Hepatoprotector.

NIVEL DE ENZIMAS HEPÁTICAS TGP-17-50 UI	N° DE MEDICIÓN	PROMEDIO (en UI)	DESVIACION ESTÁNDAR	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95% PARA LA MEDIA	
				LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
Blanco	06	29,030	+/- 4,526	24,281	33,779
Control	06	104,647	+/- 7,729	96,535	112,758
Patrón	06	37,993	+/- 1,688	36,221	39,765
Dosis 400mg/kg	06	34,172	+/- 2,806	31,227	37,116
Dosis 600mg/kg	06	29,068	+/- 4,346	24,507	33,629
Dosis 800mg/kg	06	22,797	+/- 2,711	19,952	25,641

Fuente: Análisis Estadístico.

Análisis y Discusión

En la figura N° 13 y cuadro N° 27 se observa el promedio del dosaje de la enzima hepática TGP, mediante el cual se determinó el grado de atenuación del efecto hepatotóxico. En el grupo control (tetracloruro de carbono) la actividad de la enzima está incrementada hasta en un 260.48% por arriba del grupo blanco.

De los resultados obtenidos y comparados con los valores normales (17– 50 UI/L) (Canadian Journal of Comparative Medicine – Veterinary Research, 1998), se observa el incremento considerable de esta enzima en el grupo control (104.647 UI), debido a que la TGP es más específica de daño hepático y el indicador de riesgo más adecuado del estado del hígado, porque se localiza fundamentalmente en el citosol del hepatocito (Roche Diagnostics, 2005) y se ve incrementada en hepatitis crónica por Virus de la Hepatitis C y B, fármacos, toxinas, esteatosis/esteatohepatitis no alcohólica, hemocromatosis, hepatitis autoinmune,

enfermedad de Wilson, enfermedad celíaca y hepatitis agudas virales. (Prieto V., Yuste A., 2010)

El valor de TGP en el grupo patrón (Silimarina) fue de 37.993 UI que está cercano al valor del grupo blanco (29.030 UI). Además se observa que el valor de TGP para la dosis de 400mg/Kg es de 34.172 UI siendo este menor respecto al grupo patrón por lo tanto está más cercano aún al grupo blanco. Sin embargo también se observa que el valor de TGP para la dosis de 600mg/Kg (29.068 UI) es igual a la del grupo blanco y que el valor de TGP para la dosis de 800mg/Kg (22.797 UI) está por debajo del grupo patrón y del grupo blanco.

Del análisis anterior se puede inferir que el extracto a la dosis de 800mg/Kg comparado con el patrón y las demás dosis de extracto presenta una mayor disminución de la concentración de la enzima TGP.

CUADRO N° 28: Prueba Post –Hoc (Post Test O Post Prueba) para determinar las diferencias de concentración de la enzima hepática TGP entre los diferentes grupos en experimentación.

GRUPOS EXPERIMENTALES EN COMPARACIÓN SEGÚN EL PARAMETRO TGP-17-50 UI (32)		DIFERENCIA DE MEDIAS	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95% PARA LA DIFERENCIA DE MEDIAS		SIGNIFICACIÓN ASINTÓTICA (P)
			LIM. INF.	LIM. SUP.	
BLANCO	CONTROL	-75,616	-83,377	-67,856	0,000
	PATRÓN	-8,963	-16,724	-1,20	0,016
	DOSIS A 400 mg/kg	-5,141	-12,90	2,619	0,358
	DOSIS A 600 mg/kg	-0,383	-7,79	7,722	1,00
	DOSIS A 800 mg/kg	6,233	-1,527	13,994	0,174
CONTROL	PATRÓN	66,65	58,892	74,41	0,000
	DOSIS A 400 mg/kg	70,47	62,71	78,23	0,000
	DOSIS A 600 mg/kg	75,57	67,81	83,33	0,000
	DOSIS A 800 mg/kg	81,85	74,089	89,61	0,000
PATRÓN	DOSIS A 400 mg/kg	3,82	-3,93	11,58	0,668
	DOSIS A 600 mg/kg	8,92	1,16	16,68	0,017
	DOSIS A 800 mg/kg	15,19	7,43	22,95	0,000
DOSIS A 400 mg/kg	DOSIS A 600 mg/kg	5,10	-2,65	12,86	0,366
	DOSIS A 800 mg/kg	11,37	3,61	19,135	0,001
DOSIS A 600 mg/kg	DOSIS A 800 mg/kg	-6,27	-15,35	2,80	0,329

Fuente: Análisis estadístico.

Si $P > 0.05$ se acepta que no existe diferencia significativa en la concentración de TGP debido a los tratamientos empleados.

Si $P < 0.05$ se acepta que existe diferencia significativa en la concentración de TGP debido a los tratamientos empleados.

Análisis, y Discusión

El análisis estadístico del cuadro N° 28 muestra que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos dosis 400, 600 y 800mg/kg con respecto al grupo blanco, con un nivel de $P > 0.05$ respectivamente.

La comparación del patrón con las dosis de 400mg/Kg y 600mg/kg muestra que no existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de $P > 0.05$ respectivamente, pero si existe una diferencia estadísticamente significativa con la dosis de 800mg/Kg, esto debido a que a esta dosis se tiene niveles más bajos de TGP con respecto al patrón.

La comparación entre los grupos dosis 400 y 600mg/Kg no presentan una diferencia estadísticamente significativa, pero entre los grupos dosis 400 y 800mg/Kg se observa que si esto porque a esta dosis se muestran valores de TGP menores. Finalmente la comparación entre los grupos dosis 600 y 800mg/Kg no presentan una diferencia deduciéndose que hay una equivalencia en la disminución de la concentración de la enzima TGP.

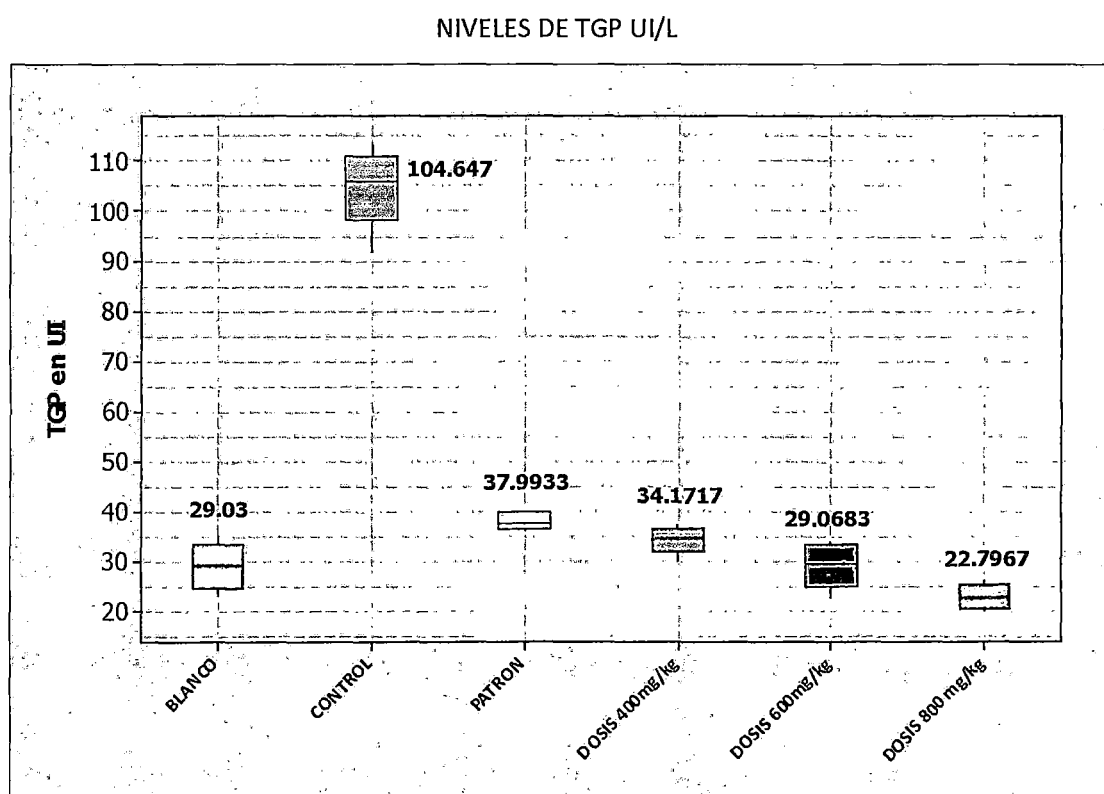


Figura N° 14: Dispersión de la concentración de la enzima hepática TGP de acuerdo a los diferentes grupos experimentales.

Fuente: Análisis estadístico.

Análisis

En la figura N° 14 podemos ver que los resultados de los grupos que recibieron el extracto a las dosis de 400 y 800mg/kg y del grupo patrón (Silimarina) presentan un rango más estrecho de dispersión de valores de TGP a diferencia de la dosis del extracto de 600mg/kg, donde los valores se encuentran más dispersos, lo que podría deberse a diversos factores que influyeron en la fase pre-analítica (recolección, transporte y centrifugación de las muestras, y aditivos) y en la fase analítica (control de equipos y reactivos, fluctuaciones en la temperatura y energía eléctrica, material mal lavado, agitación incorrecta, etc.)

4.2.2.3. Dosaje de Fosfatasa Alcalina

NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA (F.A) UI/L

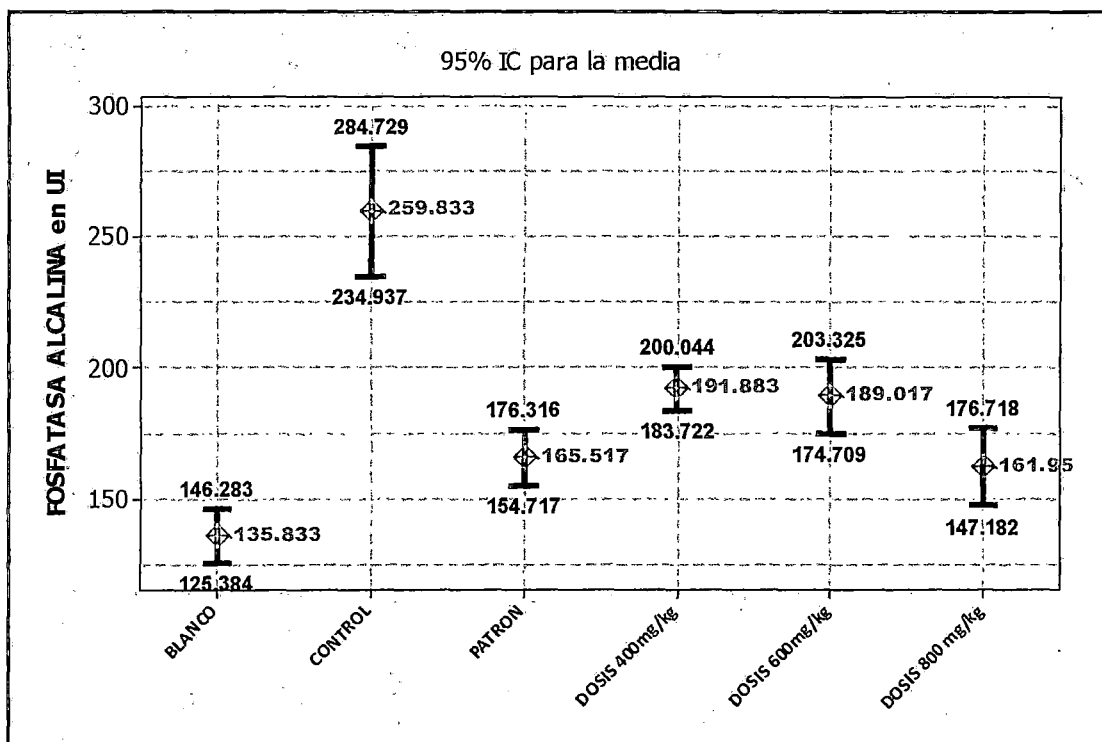


Figura N° 15: Distribución numérica de las medias de tendencia central y dispersión de la concentración de Fosfatasa Alcalina de acuerdo a los diferentes grupos experimentales.

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 29: Análisis Estadístico de los resultados del dosaje de la Fosfatasa Alcalina (UI/L) en la evaluación del Efecto Hepatoprotector.

NIVEL DE FOSFATASA ALCALINA (39-216 UI)	N° DE MEDICIÓN	PROMEDIO (en UI)	DESVIACION ESTÁNDAR	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95% PARA LA MEDIA	
				LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
<i>Blanco</i>	06	135,833	+/- 9,957	125,384	146,283
<i>Control</i>	06	259,833	+/- 23,723	234,937	284,729
<i>Patrón</i>	06	165,517	+/- 10,291	154,717	176,316
<i>Dosis 400mg/kg</i>	06	191,883	+/- 7,776	183,722	200,044
<i>Dosis 600mg/kg</i>	06	189,017	+/- 13,634	174,709	203,325
<i>Dosis 800mg/kg</i>	06	161,950	+/-14,072	147,182	176,718

Fuente: Análisis estadístico.

Análisis y Discusión

En la figura N° 15 y cuadro N° 29 se observa el promedio del dosaje de la enzima hepática fosfatasa alcalina, mediante el cual se determinó el grado de atenuación del efecto hepatotóxico. En el grupo control (tetracloruro de carbono) la actividad de la enzima esta incrementada hasta en un 91.29% por arriba del grupo blanco.

De los resultados obtenidos y comparados con los valores normales (39 – 216UI/L) (Canadian Journal of Comparative Medicine - Veterinary Research, 1998), se observa que el grupo control (259.833 UI) es el único grupo que no está dentro de estos valores por estar incrementados, por la presencia de radicales libres, debido a que esta enzima está localizada en la membrana celular del hepatocito, donde afectan estos radicales por la lipoperoxidación causando alteraciones del hígado, también el aumento patológico puede producirse por obstrucciones de vías biliares y problemas hepáticos producidos por tumores. (Balcells G., 2002)

Los resultados de la dosis de 400 y 600mg/kg fueron 191.883 UI y 189.017 UI respectivamente encontrándose estos valores elevados en comparación con el patrón, sin embargo el valor promedio de la dosis de 800mg/kg 161.950 UI si está

por debajo del grupo patrón. De lo cual deducimos que los resultados del grupo patrón y de las diferentes dosis se encuentran dentro de lo normal, pero por encima del grupo blanco (135.833 UI/L).

CUADRO N° 30: Prueba Post –Hoc (Post Test O Post Prueba) para determinar las diferencias de concentración de Fosfatasa Alcalina entre los diferentes grupos en experimentación.

GRUPOS EXPERIMENTALES EN COMPARACIÓN SEGÚN EL PARAMETRO FOSFATASA ALCALINA		DIFERENCIA DE MEDIAS	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95% PARA LA DIFERENCIA DE MEDIAS		SIGNIFICACIÓN ASINTÓTICA (P)
			LIM. INF.	LIM. SUP.	
BLANCO	CONTROL	-124,0	-153,21	-94,79	0,000
	PATRÓN	-29,683	-58,89	-0,47	0,044
	DOSIS A 400 mg/kg	-56,050	-85,25	-26,84	0,000
	DOSIS A 600 mg/kg	-53,18	-82,39	-23,97	0,000
	DOSIS A 800 mg/kg	-26,11	-55,32	3,09	0,103
CONTROL	PATRÓN	94,31	65,10	123,52	0,000
	DOSIS A 400 mg/kg	67,95	38,74	97,158	0,000
	DOSIS A 600 mg/kg	70,81	41,60	100,02	0,000
	DOSIS A 800 mg/kg	97,88	68,67	127,09	0,000
PATRÓN	DOSIS A 400 mg/kg	-26,36	-55,57	2,84	0,098
	DOSIS A 600 mg/kg	-23,50	-52,70	5,70	0,180
	DOSIS A 800 mg/kg	3,56	-25,64	32,77	0,99
DOSIS A 400 mg/kg	DOSIS A 600 mg/kg	2,86	-32,07	26,34	1,00
	DOSIS A 800 mg/kg	29,93	0,72	59,14	0,042
DOSIS A 600 mg/kg	DOSIS A 800 mg/kg	27,06	-2,14	56,27	0,083

Fuente: Análisis estadístico.

Si $P > 0.05$ se acepta que no existe diferencia significativa en la concentración de Fosfatasa Alcalina debido a los tratamientos empleados.

Si $P < 0.05$ se acepta que existe diferencia significativa en la concentración de Fosfatasa Alcalina debido a los tratamientos empleados.

Análisis y Discusión

En el cuadro N° 30 del análisis estadístico el grupo patrón y los grupos de las dosis empleadas comparados con el grupo blanco, expresan que la dosis de 800mg/kg y del patrón son los más cercanos al valor del grupo blanco.

El valor del patrón comparado con el grupo blanco si presenta una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de $P < 0.05$ ya que el patrón presenta valores más elevados pero dentro del rango normal, en cambio las dosis de 400, 600 y 800mg/kg comparado con el grupo patrón no presenta diferencia estadísticamente significativa, por lo que se deduce que el patrón y estas dosis presentan similar efecto en la disminución de la concentración de la fosfatasa alcalina. Las dosis de 600 y 800mg/kg no muestran diferencia estadísticamente significativa, pero comparada con la dosis de 400mg/kg si encontramos diferencia estadísticamente significativa, deduciendo que las dosis de 600 y 800mg/kg son más efectivas.

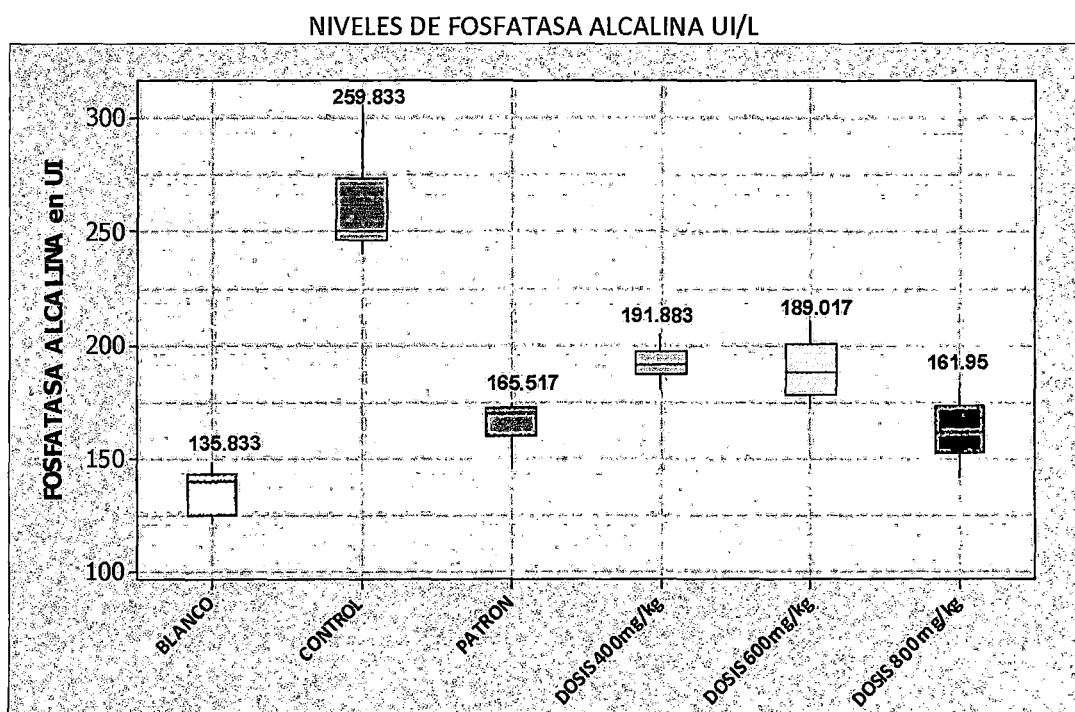


Figura N° 16: Dispersión de la concentración de la Fosfatasa Alcalina de acuerdo a los diferentes grupos experimentales.

Fuente: Análisis estadístico.

Análisis

En la figura N° 16 se observa que los resultados del grupo que recibió el tratamiento del extracto a la dosis de 400mg/kg y del grupo patrón (Silimarina) presentan un rango más estrecho de dispersión de valores de Fosfatasa Alcalina en comparación con los grupos del extracto a las dosis de 600 y 800mg/kg, donde los valores se encuentran más dispersos, probablemente por diversos factores que influyeron en la fase pre-analítica (recolección, transporte y centrifugación de las muestras, y aditivos) y en la fase analítica (control de equipos y reactivos, fluctuaciones en la temperatura y energía eléctrica, material mal lavado, agitación incorrecta, etc.)

4.2.2.4. Dosaje de Bilirrubinas

A) Dosaje de Bilirrubina Total

NIVELES DE BILIRRUBINA TOTAL (B.T) mg/dl

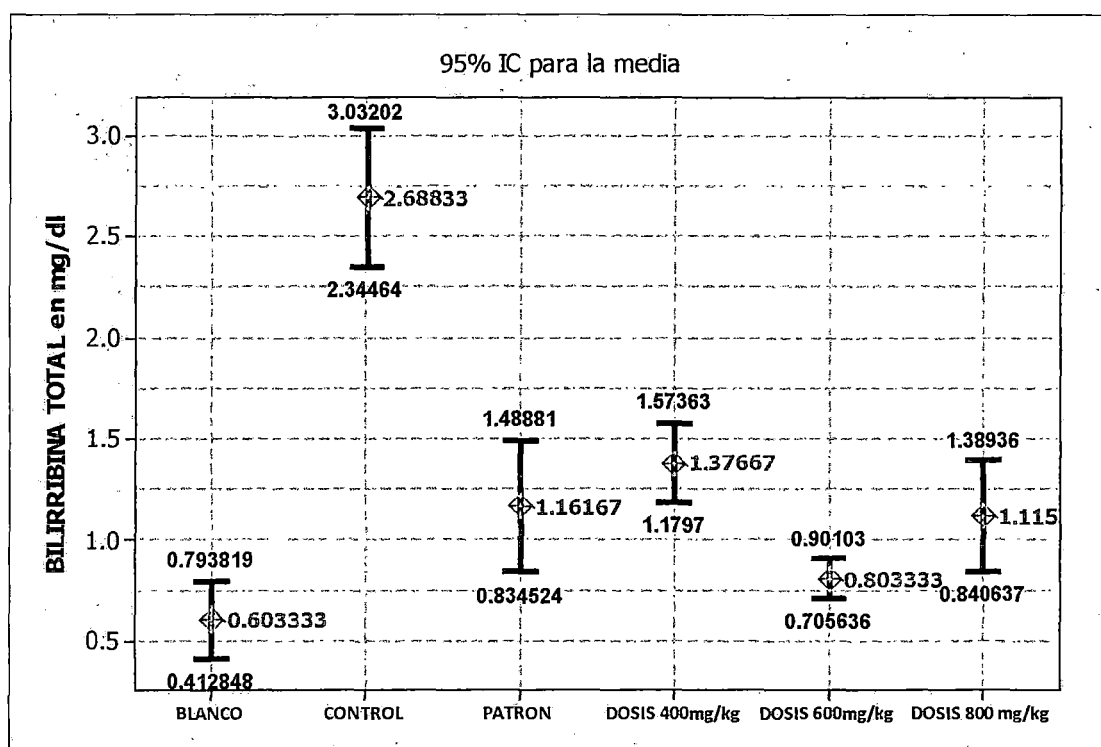


Figura N° 17: Distribución numérica de las medias de tendencia central y dispersión de la concentración de Bilirrubina Total de acuerdo a los diferentes grupos experimentales.

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 31: Análisis Estadístico de los resultados del dosaje de Bilirrubina Total (mg/dl) en la evaluación Del Efecto Hepatoprotector.

NIVEL DE BILIRRUBINA TOTAL (0.3-1.9 mg/dl)	N° DE MEDICIÓN	PROMEDIO (en mg/dl)	DESVIACION ESTÁNDAR	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95% PARA LA MEDIA	
				LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
Blanco	06	0,603	+/- 0,182	0,413	0,794
Control	06	2,688	+/- 0,328	2,345	3,032
Patrón	06	1,162	+/- 0,312	0,835	1,488
Dosis 400mg/kg	06	1,377	+/- 0,188	1,180	1,574
Dosis 600mg/kg	06	0,803	+/- 0,093	0,706	0,901
Dosis 800mg/kg	06	1,115	+/- 0,261	0,841	1,389

Fuente: Análisis estadístico.

Análisis y Discusión

En la figura N° 17 y cuadro N° 31 se aprecia el promedio del dosaje de la Bilirrubina Total, mediante el cual se determinó el grado de atenuación del efecto hepatotóxico. En el grupo control (tetracloruro de carbono) la concentración esta incrementada hasta en un 345.77% por arriba del grupo blanco.

De los resultados obtenidos y comparados con los valores normales (0.3-1.9 mg/dl) (Canadian Journal of Comparative Medicine - Veterinary Research, 1998) se observa que los resultados de Bilirrubina Total del grupo control (2.688 mg/dl) está elevados y fuera de este rango, la Bilirrubina Total mide la función del hígado porque se van a conjugar en este órgano, cuando este pigmento no es conjugado causa toxicidad, además un incremento implica una disfunción hepática lo que podría explicar este resultado (Fabre J., 2000).

Comparando el grupo patrón (1.162 mg/dl) y los diferentes grupos de dosis con el grupo blanco (0.603 mg/dl), se expresa que la dosis de 600mg/kg (0.803 mg/dl) es la más adecuada, porque su valor es la más cercana al grupo blanco.

CUADRO N° 32: Prueba Post – Hoc (Post Test O Post Prueba) para determinar las diferencias de concentración de Bilirrubina Total entre los diferentes grupos en experimentación.

GRUPOS EXPERIMENTALES EN COMPARACIÓN SEGÚN EL PARAMETRO BILIRRUBINA TOTAL		DIFERENCIA DE MEDIAS	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95% PARA LA DIFERENCIA DE MEDIAS		SIGNIFICACIÓN ASINTÓTICA (P)
			LIM. INF.	LIM. SUP.	
BLANCO	CONTROL	-2,08	-2,58	-1,58	0,000
	PATRÓN	-0,55	-1,05	-0,06	0,019
	DOSIS A 400 mg/kg	-0,77	-1,26	-0,27	0,000
	DOSIS A 600 mg/kg	-0,20	-0,69	0,29	0,837
	DOSIS A 800 mg/kg	-0,51	-1,07	-0,015	0,04
CONTROL	PATRÓN	1,52	1,03	2,02	0,000
	DOSIS A 400 mg/kg	1,31	0,81	1,80	0,000
	DOSIS A 600 mg/kg	1,88	1,38	2,38	0,000
	DOSIS A 800 mg/kg	1,57	1,07	2,06	0,000
PATRÓN	DOSIS A 400 mg/kg	-0,21	-0,71	0,28	0,791
	DOSIS A 600 mg/kg	0,35	-0,13	0,85	0,282
	DOSIS A 800 mg/kg	0,046	-0,44	0,54	1,00
DOSIS A 400 mg/kg	DOSIS A 600 mg/kg	0,57	0,077	1,06	0,015
	DOSIS A 800 mg/kg	0,26	-0,23	0,75	0,624
DOSIS A 600 mg/kg	DOSIS A 800 mg/kg	-0,31	-0,80	0,18	0,435

Fuente: Análisis estadístico.

Si $P > 0.05$ se acepta que no existe diferencia significativa en la concentración de Bilirrubina Total debido a los tratamientos empleados.

Si $P < 0.05$ se acepta que existe diferencia significativa en la concentración de Bilirrubina Total debido a los tratamientos empleados.

Análisis y Discusión

En el cuadro N° 32 encontramos que comparando el grupo blanco con la dosis de 600 mg/kg no existe una diferencia estadísticamente significativa con un $P > 0.05$, pero entre el grupo blanco y las dosis de 400 y 800mg/kg si existe una diferencia estadísticamente significativa, porque los valores están más alejados de este grupo.

En la comparación del patrón con las tres dosis se observa que no existe diferencia estadísticamente significativa por lo cual se deduce que hay una equivalencia en el efecto. Y entre las dosis de 600 y 800mg/kg no existe diferencia estadísticamente significativa porque tienen niveles de Bilirrubina Total similares, en cambio entre las dosis de 600 y 400mg/kg si existe diferencia estadísticamente significativa, por lo que deducimos que la dosis de 600mg/kg atenúa mejor el efecto hepatotóxico del tetracloruro de carbono.

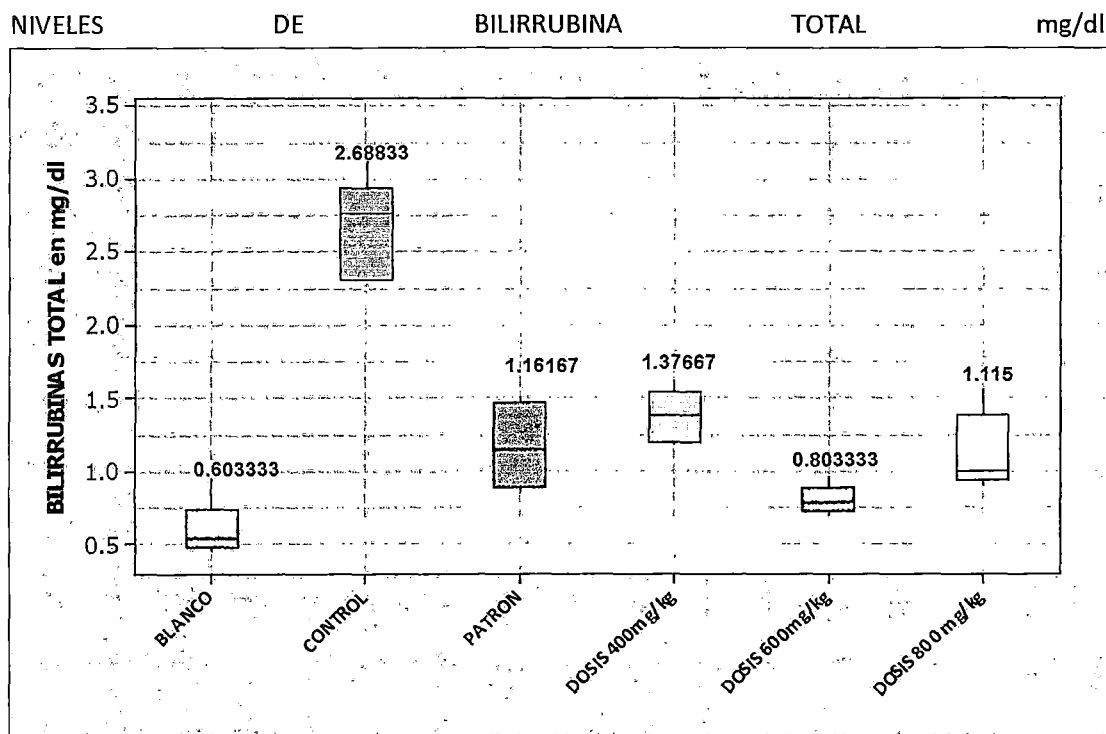


Figura N° 18: Dispersión de la concentración de la Bilirrubina Total de acuerdo a los diferentes grupos experimentales.

Fuente: Análisis estadístico.

Análisis

En la figura N° 18 podemos ver que los valores de Bilirrubina Total del grupo que recibió como tratamiento el extracto a la de dosis 600mg/kg están dentro de un rango más corto de dispersión en comparación a los grupos que recibieron el extracto a las dosis de 400mg/kg y 800mg/kg donde los valores están dentro de un rango más amplio. Esto pudo deberse a diversos factores que influyeron en la fase pre-analítica (recolección, transporte y centrifugación de las muestras, y aditivos) y en la fase analítica (control de equipos y reactivos, fluctuaciones en la temperatura y energía eléctrica, material mal lavado, agitación incorrecta, etc.)

B) Dosaje de Bilirrubina Directa

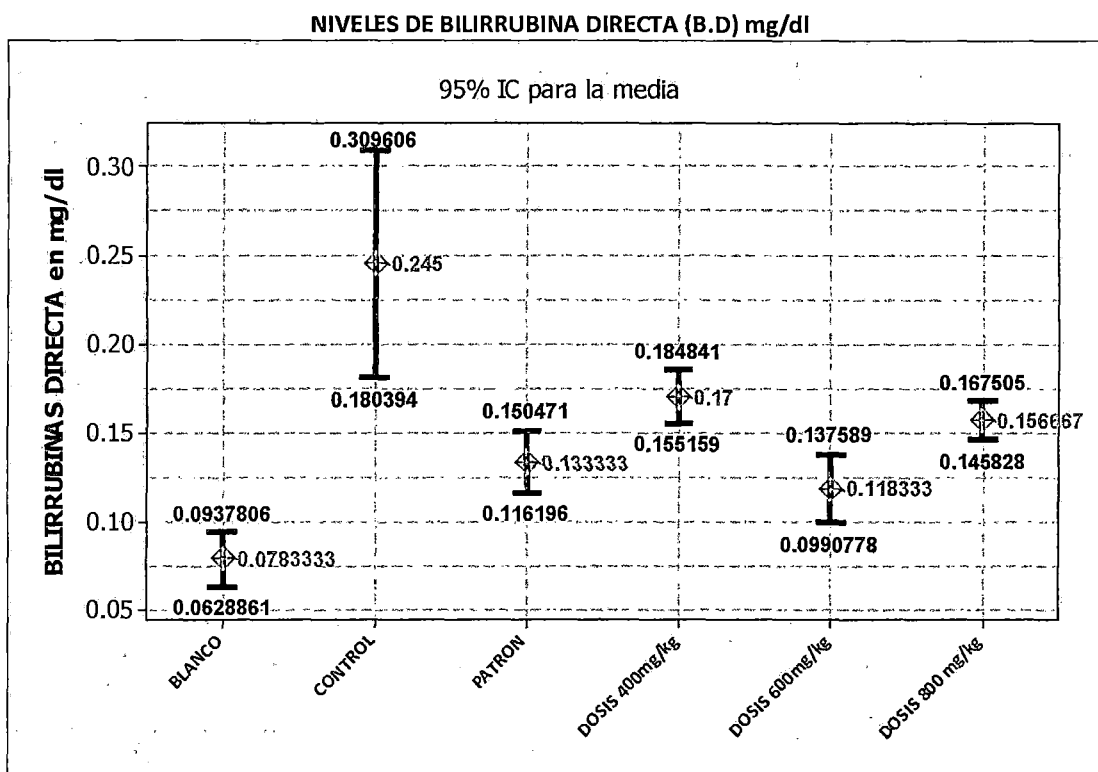


Figura N° 19: Distribución numérica de las medias de tendencia central y dispersión de la concentración de la Bilirrubina Directa de acuerdo a los diferentes grupos experimentales.

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 33: Análisis Estadístico de los resultados del dosaje de Bilirrubina Directa (mg/dl) en la evaluación del Efecto Hepatoprotector.

NIVEL DE BILIRRUBINA DIRECTA (0-0.3mg/dl)	N° DE MEDICIÓN	PROMEDIO (en mg/dl)	DESVIACION ESTÁNDAR	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95% PARA LA MEDIA	
				LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
<i>Blanco</i>	06	0,078	+/- 0,015	0,063	0,094
<i>Control</i>	06	0,245	+/- 0,062	0,180	0,310
<i>Patrón</i>	06	0,133	+/- 0,016	0,116	0,150
<i>Dosis 400mg/kg</i>	06	0,170	+/- 0,014	0,155	0,185
<i>Dosis 600mg/kg</i>	06	0,118	+/- 0,018	0,099	0,138
<i>Dosis 800mg/kg</i>	06	0,157	+/- 0,010	0,146	0,168

Fuente: Análisis Estadístico.

Análisis y Discusión

En la figura N° 19 y cuadro N° 33 se observa el promedio del dosaje de Bilirrubina Directa, mediante el cual se determinó el grado de atenuación del efecto hepatotóxico. En el grupo control (tetracloruro de carbono) la concentración esta incrementada hasta en un 214.10% por arriba del grupo blanco.

De los resultados obtenidos y comparados con los valores normales (0-0.3mg/dl) (Canadian Journal of Comparative Medicine - Veterinary Research, 1998), se muestra que todos los grupos están dentro de los valores normales, pero que el valor promedio del grupo control se encuentra en el límite superior. Esto se debe a que la Bilirrubina Directa (conjugada) es más específica para diagnosticar obstrucción biliar es por ello que los valores se mantienen en el rango normal. (Fabre J., 2000)

CUADRO N° 34: Prueba Post –Hoc (Post Test O Post Prueba) para determinar las diferencias de concentración de Bilirrubina Directa entre los diferentes grupos en experimentación.

GRUPOS EXPERIMENTALES EN COMPARACIÓN SEGÚN EL PARAMETRO BILIRRUBINA DIRECTA		DIFERENCIA DE MEDIAS	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95% PARA LA DIFERENCIA DE MEDIAS		SIGNIFICACIÓN ASINTÓTICA (P)
			LIM. INF.	LIM. SUP.	
BLANCO	CONTROL	-0,166	-0,225	-0,107	0,000
	PATRÓN	-0,055	-0,11	0,003	0,079
	DOSIS A 400 mg/kg	-0,091	-0,15	-0,32	0,000
	DOSIS A 600 mg/kg	-0,040	-0,09	0,018	0,349
	DOSIS A 800 mg/kg	-0,078	-0,13	-0,019	0,004
CONTROL	PATRÓN	0,111	0,052	0,17	0,000
	DOSIS A 400 mg/kg	0,075	0,016	0,13	0,006
	DOSIS A 600 mg/kg	0,12	0,067	0,185	0,000
	DOSIS A 800 mg/kg	0,088	0,029	0,147	0,001
PATRÓN	DOSIS A 400 mg/kg	-0,036	-0,095	0,022	0,444
	DOSIS A 600 mg/kg	0,015	-0,043	0,073	0,974
	DOSIS A 800 mg/kg	-0,023	-0,082	0,035	0,846
DOSIS A 400 mg/kg	DOSIS A 600 mg/kg	0,051	-0,007	0,110	0,115
	DOSIS A 800 mg/kg	0,013	-0,045	0,072	0,984
DOSIS A 600 mg/kg	DOSIS A 800 mg/kg	-0,038	-0,097	0,020	0,393

Fuente: Análisis estadístico.

Si $P > 0.05$ se acepta que no existe diferencia significativa en la concentración de Bilirrubina Directa debido a los tratamientos empleados.

Si $P < 0.05$ se acepta que existe diferencia significativa en la concentración de Bilirrubina Directa debido a los tratamientos empleados.

Análisis y Discusión

En el cuadro N° 34 al comparar el grupo blanco con los demás grupos podemos ver que si existe una diferencia estadísticamente significativa con un $P < 0.05$, excepto con el grupo patrón y con la dosis de 600mg/dl donde no hay una

diferencia pues los valores de Bilirrubina Directa fueron los más cercanos al grupo blanco.

Por otro lado al comparar el grupo patrón con las tres dosis utilizadas tampoco se presenta una diferencia, entonces se puede decir que tienen similar efecto en la recuperación del daño hepático. Del mismo modo al comparar la dosis de 400mg/kg con la de 600 y 800mg/kg no existe diferencia estadísticamente significativa, deduciendo de esta forma que las tres dosis tienen un buen efecto en la reducción de la concentración de la Bilirrubina Directa.

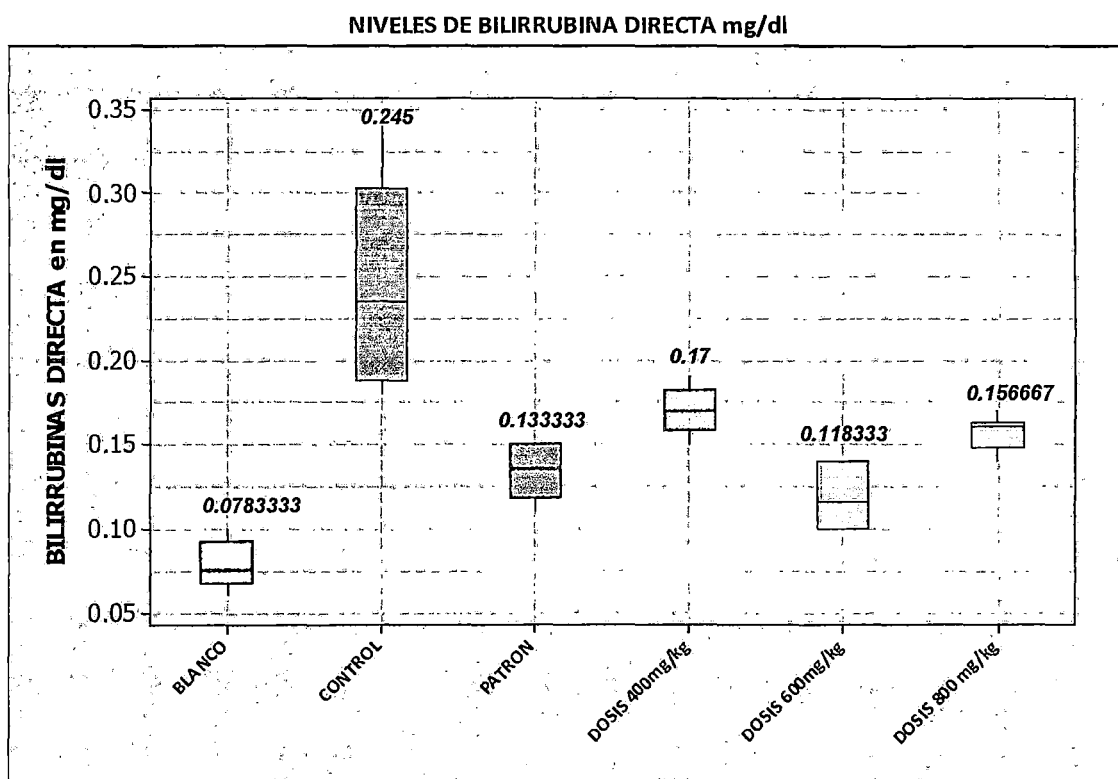


Figura N° 20: Dispersión de la concentración de la Bilirrubina Directa de acuerdo a los diferentes grupos experimentales.

Fuente: Análisis estadístico.

Análisis

En la figura N° 20 se observa que los valores de Bilirrubina Directa en los grupos que recibieron el extracto a las dosis de 400mg/kg y 800mg/kg están dentro de un rango más corto de dispersión, en cambio en la dosis de extracto de 600mg/kg y en el grupo patrón (Silimarina) los valores están más dispersos, probablemente por diversos factores que influyeron en la fase pre-analítica (recolección, transporte y centrifugación de las muestras, y aditivos) y en la fase analítica (control de equipos y reactivos, fluctuaciones en la temperatura y energía eléctrica, material mal lavado, agitación incorrecta, etc.).

C) Dosaje de Bilirrubina Indirecta

NIVELES DE BILIRRUBINA INDIRECTA (B.I) mg/dl

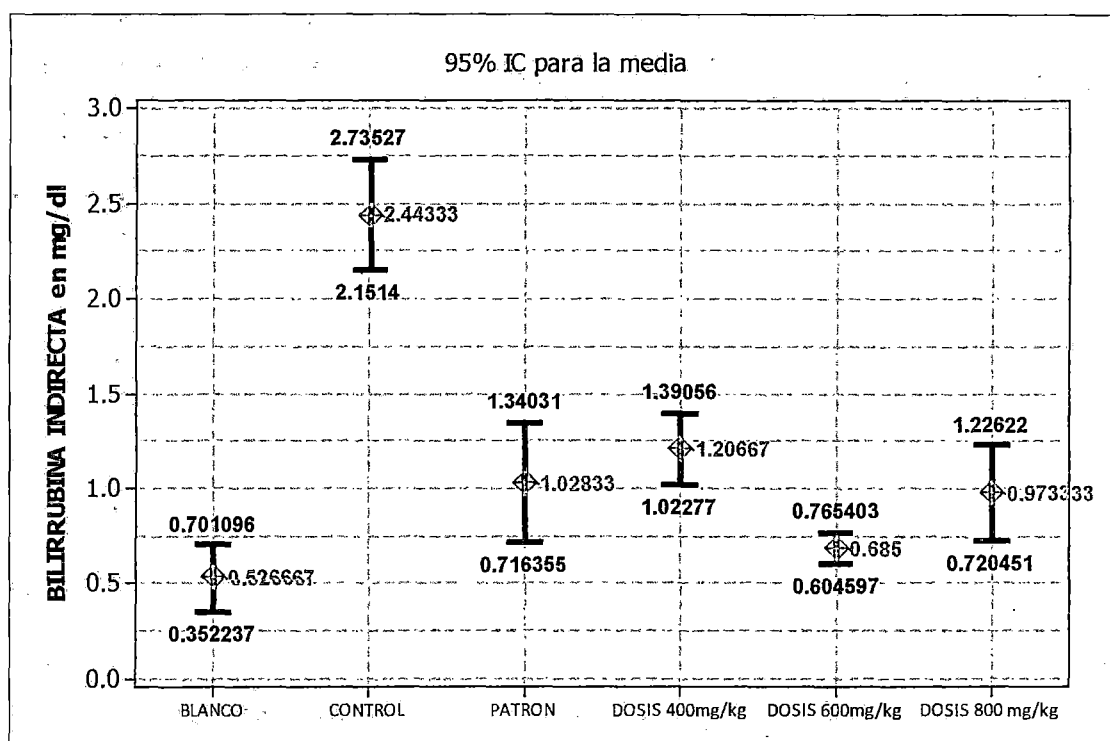


Figura N° 21: Distribución numérica de las medias de tendencia central y dispersión de la concentración de la Bilirrubina Indirecta de acuerdo a los diferentes grupos experimentales.

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 35: Análisis Estadístico de los resultados del dosaje de Bilirrubina Indirecta (mg/dl) en la evaluación del Efecto Hepatoprotector.

NIVEL DE BILIRRUBINA INDIRECTA 0.3-1.6mg/dl	N° DE MEDICIÓN	PROMEDIO (en mg/dl)	DESVIACION ESTÁNDAR	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95% PARA LA MEDIA	
				LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
Blanco	06	0,527	+/- 0,166	0,352	0,701
Control	06	2,443	+/- 0,278	2,151	2,735
Patrón	06	1,028	+/- 0,297	0,716	1,340
Dosis 400mg/kg	06	1,207	+/- 0,175	1,023	1,391
Dosis 600mg/kg	06	0,685	+/- 0,077	0,605	0,765
Dosis 800mg/kg	06	0,973	+/- 0,241	0,720	1,226

Fuente: Análisis Estadístico.

Análisis y Discusión

En la figura N° 21 y cuadro N° 35 se aprecia el promedio del dosaje de Bilirrubina Indirecta, mediante el cual se determinó el grado de atenuación del efecto hepatotóxico. En el grupo control (tetracloruro de carbono) la concentración esta incrementada hasta en un 263.92% por arriba del grupo blanco.

De los resultados obtenidos y comparados con los valores normales (0.3-1.6 mg/dl) (Canadian Journal of Comparative Medicine - Veterinary Research, 1998), se observa que el valor del grupo control (2.443 mg/dl) está incrementado y además fuera del rango normal. Esta hiperbilirrubinemia de predominio indirecto (forma no conjugada) puede ser debida a un aumento de la producción de bilirrubina, una disminución de su captación por el hepatocito o una disminución de su conjugación, producida en una disfunción hepática. (Jimenez Murillo Luis - Montero Perez FJ.)

En la comparación del grupo patrón (1.028 mg/dl) con los grupos dosis 400 mg/Kg (1.207 mg/dl) y 800 mg/Kg (0.973 mg/dl) se aprecia que los valores de Bilirrubina Indirecta son similares pero alejados del grupo blanco (0.527 mg/dl), pero al comparar el grupo dosis 600 mg/Kg (0.685 mg/dl) encontramos que esta es la más adecuada porque es un valor más cercano al grupo blanco, lo que nos indica que esta dosis favorece una mejor recuperación del hígado.

CUADRO N° 36: Prueba Post – Hoc (Post Test O Post Prueba) para determinar las diferencias de concentración de Bilirrubina Indirecta entre los diferentes grupos en experimentación.

GRUPOS EXPERIMENTALES EN COMPARACIÓN SEGÚN EL PARAMETRO BILIRRUBINAS INDIRECTA		DIFERENCIA DE MEDIAS	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95% PARA LA DIFERENCIA DE MEDIAS		SIGNIFICACIÓN ASINTÓTICA (P)
			LIM. INF.	LIM. SUP.	
BLANCO	CONTROL	-1,91	-2,36	-1,46	0,000
	PATRÓN	-0,501	-0,95	-0,05	0,021
	DOSIS A 400 mg/kg	-0,68	-1,13	-0,22	0,001
	DOSIS A 600 mg/kg	-0,158	-0,60	0,29	0,901
	DOSIS A 800 mg/kg	-0,44	-0,89	0,003	0,053
CONTROL	PATRÓN	1,41	0,96	1,86	0,000
	DOSIS A 400 mg/kg	1,23	0,78	1,68	0,000
	DOSIS A 600 mg/kg	1,75	1,30	2,20	0,000
	DOSIS A 800 mg/kg	1,47	1,01	1,92	0,000
PATRÓN	DOSIS A 400 mg/kg	-0,178	-0,62	0,27	0,847
	DOSIS A 600 mg/kg	0,34	-0,10	0,79	0,228
	DOSIS A 800 mg/kg	0,05	-0,39	0,50	0,999
DOSIS A 400 mg/kg	DOSIS A 600 mg/kg	0,52	0,07	0,97	0,015
	DOSIS A 800 mg/kg	0,23	-0,21	0,68	0,642
DOSIS A 600 mg/kg	DOSIS A 800 mg/kg	-0,288	-0,73	0,161	0,413

Fuente: Análisis estadístico.

Si $P > 0.05$ se acepta que no existe diferencia significativa en la concentración de Bilirrubina Indirecta debido a los tratamientos empleados.

Si $P < 0.05$ se acepta que existe diferencia significativa en la concentración de Bilirrubina Indirecta debido a los tratamientos empleados.

Análisis y Discusión

En el cuadro N° 36 se observa que la comparación del grupo blanco con los grupos dosis 600 y 800 mg/kg no presentan una diferencia estadísticamente significativa con un $P > 0.05$ porque los valores de Bilirrubina Indirecta son similares. Por el contrario en la comparación del grupo blanco con el grupo patrón (Silimarina) y el grupo dosis 400 mg/kg si se observa una diferencia estadísticamente significativa con un $P < 0.05$ donde los valores de estos grupos están alejados del grupo blanco.

En la comparación del grupo patrón con las tres dosis utilizadas se observa que no existe una diferencia, tampoco entre los grupos dosis 400 y 800mg/kg; en cambio entre las dosis de 800 y 600mg/kg si existe diferencia estadísticamente significativa pues a esta última dosis se presentan valores inferiores de Bilirrubina Indirecta, por lo que encontramos que a esta dosis hubo una mejor recuperación del daño causado por el tetracloruro de carbono.

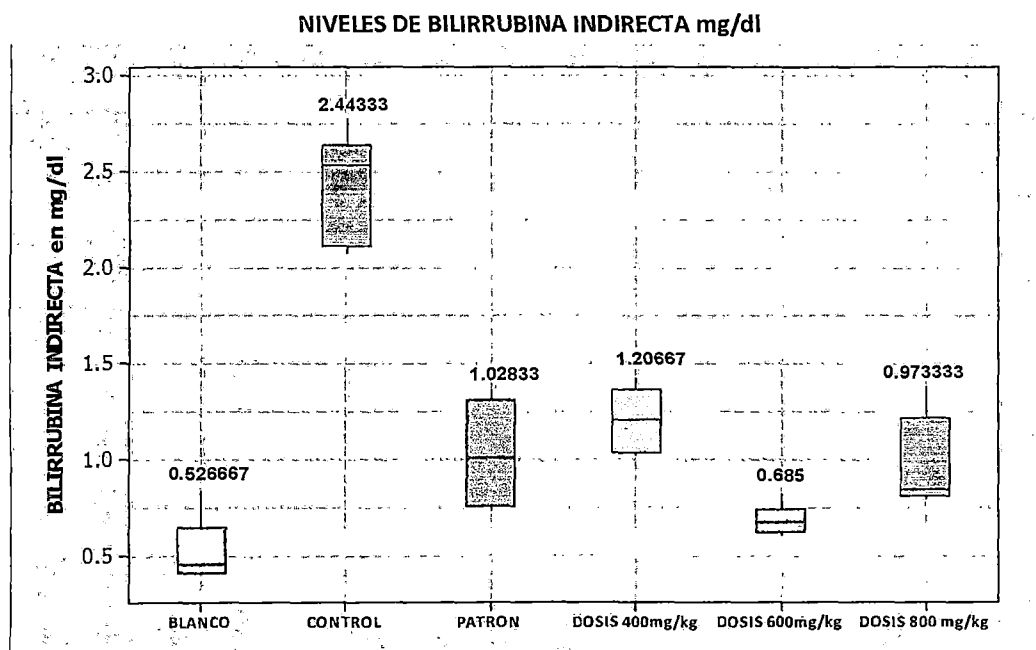


Figura N° 22: Dispersión de la concentración de la Bilirrubina Indirecta de acuerdo a los diferentes grupos experimentales. Fuente: Análisis estadístico.

Análisis

En la figura N° 22 se observan que los valores de Bilirrubina Indirecta en el grupo que recibió el extracto a la dosis de 600mg/kg se encuentran en un rango más corto de dispersión de valores a diferencia de los grupos del extracto a las dosis de 400 y 800mg/kg y del grupo patrón (Silimarina) cuyos valores están en un rango más amplio, esto pudo deberse a diversos factores que influyeron en la fase pre-analítica (recolección, transporte y centrifugación de las muestras, y aditivos) y en la fase analítica (control de equipos y reactivos, fluctuaciones en la temperatura y energía eléctrica, material mal lavado, agitación incorrecta, etc.).

4.2.2.5. Análisis de los resultados obtenidos en la cuantificación de las Enzimas Hepáticas y Bilirrubinas

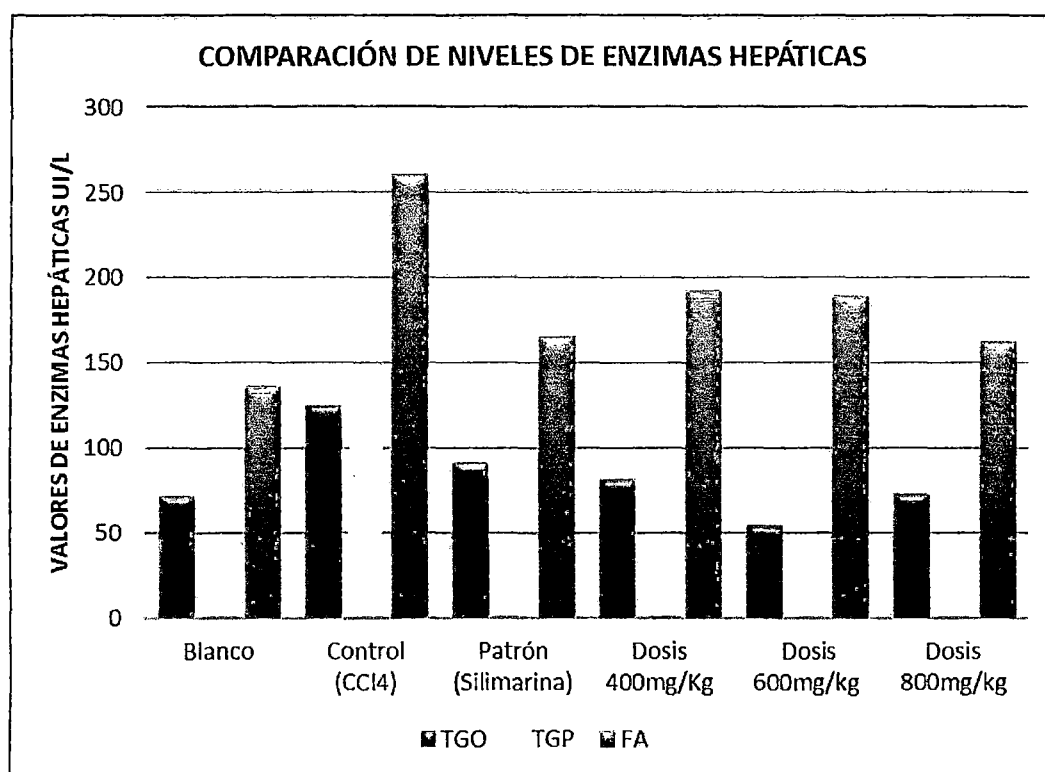


Figura N° 23: Comparación de los Niveles de Enzimas Hepáticas.

Fuente: Elaboración propia.

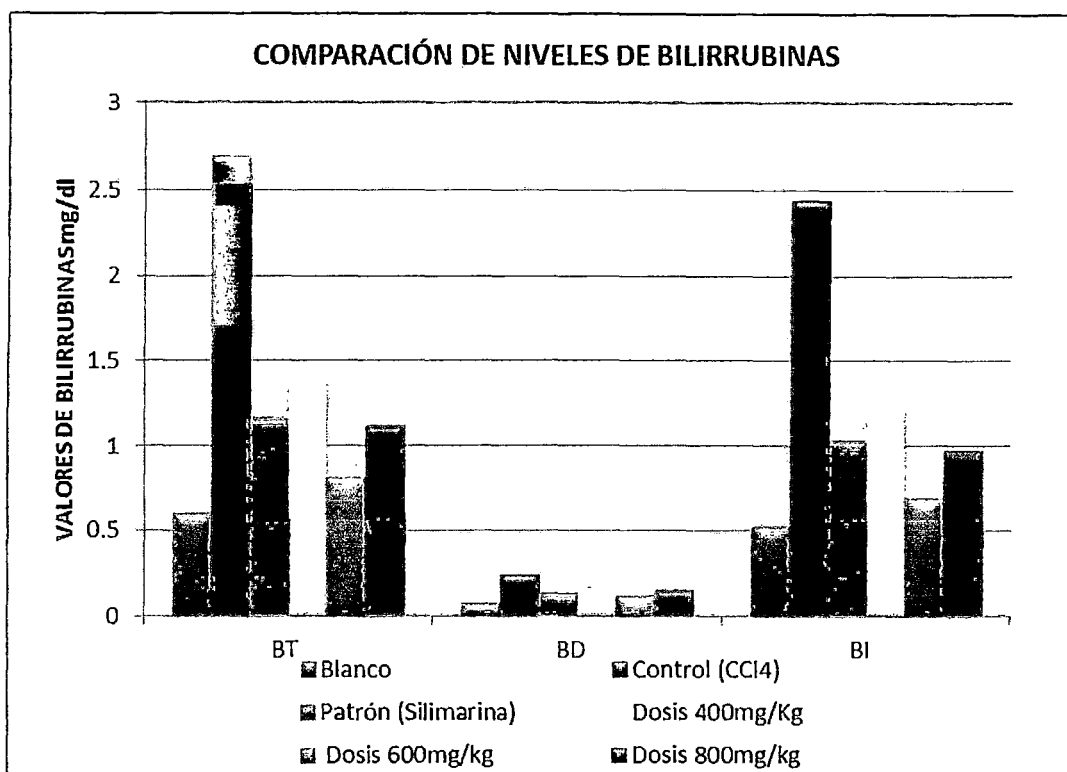


Figura N° 24: Comparación de los Niveles de Bilirrubinas.
Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 37: Comparación de los promedios de las Enzimas Hepáticas y Bilirubinas

Valores Normales	Dosis 400 mg/kg	Dosis 600 mg/kg	Dosis 800 mg/kg
GOT (32-92UI)	81.518 UI	53.673 UI	72.612 UI
GPT(17-50UI)	34.172 UI	29.068 UI	22.797 UI
FA (39-216UI)	191.883 UI	189.017 UI	161.950 UI
BT (0.3-1.9mg/dl)	1.377 mg/dL	0.803 mg/DI	1.115 mg/dL
BD (0-0.3mg/dl)	0.170 mg/dL	0.118 mg/dL	0.157 mg/dL
BI (0.3-1.6mg/dl)	1.207 mg/dL	0.685 mg/dL	0.973 mg/DI

Fuente: Elaboración propia.

En el análisis de las figuras N° 23, 24 y cuadro N° 37 encontramos que las dosis 400, 600 y 800 mg/kg de extracto de *Plantago major* L. (llantén) empleadas en el tratamiento del daño hepático producido por la administración del tetracloruro de carbono por un período de cinco semanas, lograron mantener la concentración de las enzimas hepáticas y bilirrubinas dentro de los valores normales.

Pero encontrándose que en los grupos dosis 600 y 800 mg/kg se observa un mayor descenso de los niveles de Transaminasas (GOT y GTP), Fosfatasa Alcalina (FA) y Bilirrubinas (BT, BD y BI) a valores similares y a veces aún más bajos que los del grupo patrón (Silimarina), por lo cual podemos decir que el extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (llantén) en dosis mayores o iguales a 600mg/kg posee efecto hepatoprotector igual o mejor que el patrón utilizado. Este efecto puede atribuirse a su contenido de ciertos flavonoides (apigenina, luteolina y escutellarina) y taninos que cuentan con propiedades antioxidantes. (Blanco B., 2008)

En el grupo control (tetracloruro de carbono) se encontró un aumento importante de los niveles de las enzimas GOT (76.34%), GPT (248.48%), Fosfatasa Alcalina (91.29%), Bilirrubina Total (345.77%), Bilirrubina Directa (214.10%,) y Bilirrubina Indirecta (263.92%). Este comportamiento enzimático aparece en la intoxicación por hidrocarburos clorados como el tetracloruro de carbono cuyo principal mecanismo de toxicidad es la generación de radicales libres. El tetracloruro de carbono es el prototipo de los hepatotóxicos, por lo que ha sido objeto de numerosos estudios. (Díaz P. y Col., 1997)

Por ejemplo en el Trabajo Científico publicado en la Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas titulado "Probable Efecto Hepatoprotector de la *Verbena carolina* (Verbena) en la hepatitis inducida con Tetracloruro de carbono en la rata" (Favari L. y Col., 2007) o en la Tesis de Maestría en Farmacología de la Universidad de

Colima: Facultad de Medicina titulado "Modificación del curso de la cirrosis experimental con extractos totales de *Rosmarinus officinalis* (Romero)" (Alvarez A., 1994).

Por los estudios realizados podemos indicar que es posible revertir un cuadro de intoxicación hepática inducida por tetracloruro de carbono, con diferentes tipos de extractos de plantas, de acuerdo a su composición fitoquímica del cual dependerán sus propiedades terapéuticas.

4.2.2.6. De la determinación del grado de Lesión del Tejido Hepático

CUADRO N° 38: Grado de lesión del Tejido Hepático

	BLANCO (s/tratam.)	CONTROL (CCl₄)	PATRÓN (Silimarina)	DOSIS 400mg/kg	DOSIS 600mg/kg	DOSIS 800mg/kg
Edema	0	1	2	2	1	1
Congestión	1	2	2	2	1	1
Esteatosis	0	1	0	0	0	0
Necrosis	0	2	0	0	0	0
Inflamación	0	2	0	0	0	0
Hepatocitos Reactivos	0	2	0	0	2	1

Fuente: Elaboración propia basada en el estudio histopatológico.

Leyenda:

- 0. Nada
- 1. Leve
- 2. Moderado
- 3. Severo

Análisis y Discusión

En el cuadro N° 38 se observa los grados de lesión hepática a nivel histológico de los diversos grupos experimentales, de acuerdo a los tratamientos recibidos respectivamente

En el grupo blanco (sin tratamiento) los hígados de las ratas no presentaron alteraciones histológicas (fotografía N° 21 - Anexo N° 13), observándose un parénquima hepático normal, con una ligera congestión a nivel de la vena centrolobulillar.

En el grupo control (tetracloruro de carbono) se encontró un edema leve, con una congestión moderada, esteatosis leve (fotografía N° 22 - Anexo N° 13), con inflamación y necrosis moderada, y además una presencia moderada de hepatocitos reactivos.

En el grupo patrón (Silimarina) se observa un edema y congestión moderado (fotografía N° 23 - Anexo N° 13), con ausencia de esteatosis, inflamación, necrosis y hepatocitos reactivos.

En el grupo de dosis de 400mg/Kg existe un edema y congestión moderado con ausencia de los demás parámetros de lesión. Sin embargo en el grupo de dosis de 600 y 800 mg/Kg podemos observar un leve edema y congestión (fotografía N° 24 - Anexo N° 13), además la presencia de hepatocitos reactivos de moderado a leve respectivamente, pero sin ninguna alteración de lesión. Podemos indicar que los grupos de dosis de 600 y 800 mg/Kg no presentaron un grado de lesión importante en comparación con el grupo control (tetracloruro de carbono) donde el grado de lesión fue mayor, presentando todos los parámetros de alteración en forma moderada. Y comparando las dosis 600 y 800 mg/Kg con el grupo patrón (Silimarina) solo existe una diferencia en cuanto al edema y congestión, ya que fue leve en las dosis y moderado en el patrón (Silimarina). Por lo cual se deduce que el efecto hepatoprotector del extracto de *Plantago major* L. (llantén) a las dosis de 600 y 800 mg/Kg es similar al patrón (Silimarina).

CONCLUSIONES

De la investigación realizada del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (Llantén) se concluye lo siguiente:

1. Se evaluó y se demostró que el extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (Llantén) tiene efecto citoprotector gástrico a las dosis de 600 y 800mg/kg, y un efecto hepatoprotector a partir de una dosis de 400mg/kg.
2. Se obtuvo el extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (Llantén) a partir de las hojas secas.
3. En las pruebas preliminares el extracto seco hidroalcohólico al 70% de la especie vegetal de *Plantago major* L. (Llantén) reportó tener un porcentaje de humedad de 85.70%, porcentaje de rendimiento de 55.12 %, solubilidad en solventes polares (agua, metanol, etanol) e insoluble en solventes apolares (hexano, benceno, éter de petróleo, bencina).
4. Se determinó cualitativamente la composición fitoquímica de los metabolitos secundarios del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (Llantén) dando como resultado abundante cantidad de compuestos fenólicos, azúcares reductores; moderada cantidad de flavonoides, triterpenoides y esteroides; y la escasa cantidad de quinonas, taninos, alcaloides y saponinas.

5. Se evaluó el efecto citoprotector gástrico del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (Llantén), en animales de experimentación por el método de úlcera gástrica inducida con etanol absoluto, determinándose después del estudio histopatológico que las dosis de 600 y 800mg/kg presentan efecto citoprotector gástrico , con un índice de inhibición ulcerogénica del 99.58% y 100% respectivamente, siendo mejor que los fármacos patrón Sucralfato y Omeprazol que tienen un porcentaje de inhibición ulcerogénica de 97.66% y 73.31% respectivamente.

6. Se evaluó el efecto hepatoprotector del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (Llantén), en animales de experimentación por el método de intoxicación con tetracloruro de carbono, determinándose después del estudio histopatológico y del dosaje de enzimas hepáticas que la dosis de 400mg/kg presenta un similar efecto que el patrón Silimarina, pero a dosis mayores de 600 y 800mg/kg el efecto es mejor que el patrón ya que hay una mayor disminución de la concentración de las enzimas hepáticas, y un menor grado de lesión del tejido hepático. Deduciendo de esta forma que el efecto del extracto es dependiente de la dosis.

SUGERENCIAS

A la Autoridad Universitaria:

- ❖ Implementar un laboratorio de Farmacología Experimental para el desarrollo de trabajos de investigación en plantas medicinales.

A los alumnos que deseen continuar con el presente trabajo de investigación

- ❖ Realizar estudios fitoquímicos cuantitativos de los metabolitos secundarios de la especie vegetal.
- ❖ Realizar una caracterización y cuantificación de compuestos fenólicos de la especie vegetal.
- ❖ Identificar el o los metabolitos responsables de los efectos citoprotector gástrico y hepatoprotector.
- ❖ Tener en cuenta el alto porcentaje de humedad para futuros trabajos con la especie vegetal.
- ❖ Realizar una forma farmacéutica haciendo previos ensayos a otros intervalos de dosis de la especie vegetal.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Abenavoli L., Aviello G., Capasso R., Milic N., Capasso F.**, Milk Thistle for Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease, international monthly journal in the field of hepatology, 2011.

Citado: 15:00 horas, 11 de Octubre 2011. Disponible en la World Wide Web:
<http://hepatmon.com/view/?id=640>

2. **Agapito F., Sung I.**, Fitomedicina: 1100 Plantas Medicinales, Perú: Editorial Isabel, 2005.

3. **Alvarez Amezcua Concepción.**, Modificación del curso de la cirrosis experimental con extractos totales de Romero (*Rosmarinus officinalis*) Universidad de Colima: Facultad de Medicina, 1994.

Citado: 14:00 horas, 02 Febrero 2011. Disponible en la World Wide Web:
http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/AConcepcion.pdf

4. **Alvarez Ávalos Alicia, Montero Gómez María José, Pomar Montalvo Felicia y Sánchez Gobin Ester**, Actividad antiulcerosa de un extracto etanólico de *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Schult. Bip. en ratas, Instituto de Gastroenterología. Facultad de Farmacia de La Universidad de Salamanca. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos - REV CUBANA PLANT MED 1998.

Citado: 13:30 horas, 10 Febrero 2011. Disponible en la World Wide Web:
http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol3_3_98/pla03398.htm

5. **Arellano Jiménez Pedro**, El Libro Verde, Guía de Recursos Terapéuticos Vegetales, Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Medicina Tradicional, 2001.
6. **Argente Horacio A., Alvarez Marcelo E.**, Semiología Médica: Fisiopatología, Semiología y Propedéutica: Enseñanza Basada en el Paciente, 1° Ed. 3° Reimp- Buenos Aires: Médica Panamericana, 2008.
7. **Arellano Jiménez Pedro**, El libro Verde - Guía de Recursos Terapéuticos Vegetales, Instituto Nacional de Medicina Tradicional, 1992.
8. **Balcells Gorina Alfonso**, La Clínica y el Laboratorio, 19° Edición, Editorial Masson, 2002.
9. **Blanco Bárbara, Saborío Adriana, Garro Giovanni**, Descripción Anatómica, Propiedades Medicinales y uso Potencial de Plantago Major (Llantén Mayor) - Tecnología en marcha, Vol. 21-2, 2008.

Citado: 14:00 horas, 02 Febrero 2011, p. 17-24. Disponible en la World Wide Web:http://www.tec.cr/sitios/Vicerrectoria/vie/editorial_tecnologica/Revista_Tecnologia_Marcha/pdf/tecnologia_marcha_21-2/21-2%2017-24.pdf
10. **Brack Egg Antonio**, Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú, Centro de Estudios Regionales Andinos "Bartolome de las Casas", 1999.
11. **Butlletí d'Informació Farmacèutica**, Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge, N° 9; Primer y Segon Trimestre, 1996.
12. **Cáceres A.**, Plantas de uso medicinal en Guatemala, Guatemala: Universitaria Guatemala; 1996.
13. **Canadian Journal of Comparative Medicine – Veterinary Research**; The Canadian Council on Animal Care – Its Guidelines and Policy Directive: The Veterinarian's Responsibility; Journal List > Can J Vet Res > v.55 (3); Jul. 1998.

Citado: 11:00 horas, 06 Junio 2011. Disponible en la World Wide Web:
<http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Spanish/ANEX05.pdf>

14. Carretero Marián, Citoprotección Gástrica, Avances Farmacológicos, Julio-Agosto, 2001.

Citado: 11:00 horas, 10 Enero 2012. Disponible en la World Wide Web:
http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13018314&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v20n07a13018314pdf001.pdf&ty=84&accion=L&origen=dfarmacia&web=www.dfarmacia.com&lan=es

15. Cascales Angosto Maria, Ferrandiz Garcia Francisco, Aspectos Bioquímicos y Farmacológicos en Disfunciones Hepáticas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid 1985.

16. Cascales M., Martin S., Regeneración Hepática Madrid Editoriales Cascales M. y Rodes J., 1999.

17. Caviedes Fernando, Apuntes de Medicina Tradicional: La racionalización de lo irracional, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología - CONCYTEC, respecto a la 1º Edición por A&BSA., Lima –Perú, 1993.

18. Curtis Michael J., Page Clive P., Sutter Morley C., Walkher Michael J. A., Farmacología Integrada, Editorial Harcourt.

Citado: 14:00 horas, 20 Junio 2011. Disponible en la World Wide Web:
http://books.google.es/books?id=h7cxH6XH4-sC&pg=PA306&dq=ulcera+peptica+gastritis&hl=es&ei=CsBJTabrJs_pgQf_rNnpDw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=10&ved=0CGIQ6AEwCQ#v=onepage&q&f=false

19. Díaz Portillo Jacobo, Fernandez del Barrio Maria, Parede Salido F., Aspectos básicos de Bioquímica Clínica, Ediciones Díaz de Santos S. A., España 1997.

20. Díaz Soto Luis, Actividad Hepatoprotectora de las Tinturas de dos especies vegetales del género *Hypericum*, Revista Cubana Med Milit, 2001.

21. Diccionario Mosby Medicina, Enfermería y Ciencias de la Salud, 5° Edición, Editorial Harcourt Madrid – España 2008.

22. Ecoaldea

Citado: 17:30 horas, 16 Octubre 2011. Disponible en la World Wide Web: http://www.ecoaldea.com/plmd/lilanten_may.htm

23. Estrada Flores Elvira, Uribe Aranzábal María Del Carmen, (compiladoras), Atlas de Histología de Vertebrados 1° edición, Universidad Autónoma de México Facultad de Ciencias, 2002.

24. Fabre Jean, Terapéutica Médica, 20° Edición, Editorial Ateneo-Argentina, 2000).

25. Farfán Gustavo, Cabezas César, Mortalidad por enfermedades digestivas y hepatobiliares en el Perú, 1995-2000, Revista de Gastroenterología del Perú, Vol.22, N° 4, Universidad Peruana Cayetano Heredia - Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima 2002.

Citado: 16:00 horas, 19 Octubre 2011, p.310-323. Disponible en la World Wide Web:http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292002000400007&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1022-5129.

26. Favari Perozzi Liliana, Nava Álvarez Raquel, Meléndez Camargo Estela, Probable Efecto Hepatoprotector de la *Verbena carolina* (Verbena) en la

hepatitis inducida con Tetracloruro de Carbono en la rata, Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas ISSN, Vol. 38, 2007.

Citado: 11:00 horas, 26 Octubre 2011, p.19-25. Disponible en la World Wide Web: <http://www.redalyc.org/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=57938304>

27. Ferrer López Ingrid, Pérez Pozo José Manuel, Herrerías Gutiérrez Juan Manuel, Guía de Seguimiento Farmacoterapéutico sobre Úlcera Péptica, Grupo de Investigación en Atención Farmacéutica, Universidad de Granada, 2003.

28. Fonnegra G. Ramiro, Jiménez R. Silvia Luz, Plantas Medicinales Aprobadas en Colombia, 2º Edición, Editorial Universidad de Antioquía, 2007.

29. Fraschini F., Demartini G., Esposti D., Pharmacology of Silymarin, Clin Drug Invest 22(1):51-65, Adis International Limited 2002.

Citado: 08:00 horas, 11 de Octubre 2011. Disponible en la World Wide Web: <http://drug.pharmacy.psu.ac.th/wbfile/410254820581.pdf>

30. Ganong William F., Fisiología médica 19ª edición (traducida de la 21ª edición) Editorial el Manual Moderno, 2003.

31. García González M., Coto Morales T., Soto Rodríguez G., Pazos L., Toxicidad Sub-Crónica y Prueba de Irritabilidad Ocular del Extracto Acuoso de las Hojas de *Plantago Major* (Plantaginaceae) - Revista de Biología Tropical, Vol.51, N° 3-4, 2003.

Citado: 14:00 horas, 19 Octubre 2011, pp. 635-638. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442003000300004&lng=es&nrm=iso. ISSN 0034-7744.

- 32. Garro M. Giovanni, Alvarenga V. Silvana,** Un Protocolo para el Cultivo *in vitro* y la Micropropagación masiva del Llantén (*Plantago major*), Tecnología en marcha, Vol. 22, N°3, Julio-Setiembre, 2009.
- 33. Gil Hernández Fernando,** Tratado de Medicina del Trabajo, Editorial Masson S.A., 2005.
- 34. Glasinovic Juan Carlos,** Curso Integrado de Clínicas Medico Quirúrgicas, Clase Daño Hepático por Alcohol, 2000.
- Citado: 17:00 horas, 19 Octubre 2011, p.310-323. Disponible en la World Wide Web:
http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/cuarto/integrado4/apuntesclases/dh_alcohol.html
- 35. Gisbert Calabuig Juan Antonio,** Medicina Legal y Toxicología, 4° Edición, Editorial Salvat Editores S.A.
- 36. Gómez A., Gómez Z.C., Estacio M., Granda H.K., Guerrero M., Gutierrez J., Herrada L., Nina M., Ohara Z.J, Olaya U.M., Olivos M., Pulache K., Quispe M., Castañeda, Benjamín, Ibáñez Lucy,** Estudio Comparativo del Efecto Antiinflamatorio del Plantago major "Llantén" y del Diclofenaco, 2002.
- Citado: 11:00 horas, 10 Octubre 2011. Disponible en:
http://www.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2002/Art8_Vol2_N1-2.pdf
- 37. Gunningham James G.,** Fisiología Veterinaria, 3° Edición, Editorial W.V. Saunders Company, an Elsevier, 2005.
- 38. Gunningham James G., Bradley G. Klein,** Fisiología Veterinaria, 4° Edición, Editorial W.V. Saunders Company, an Elsevier, 2009.

39. Huillca D. Leonor, "Efecto Antiulceroso del Liofilizado de hojas de *Medicago sativa* (Alfalfa) en úlceras gástricas inducidas por estrés en ratas", Arequipa 2002, UCSM.

40. Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt" de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, Uso de plantas medicinales - Manual para el personal de salud del primer nivel de atención, Dirección Regional de Salud de Loreto, Iquitos-Perú, 1997.

41. Jimenez Murillo Luis, Montero Perez FJ., Medicina de Urgencias y Emergencias: Guía Diagnóstica y Protocolos de Actuación, 3° Edición, Editorial Elsevier España S. A.

42. Kawano Sunao, Tsuji Shingo, El Rol del Flujo Sanguíneo Mucoso: Una Revisión Concepcional en el Daño de la Mucosa Gástrica y su Protección. Citado: 07:00 horas, 05 de Octubre del 2011. Disponible en la World Wide Web: http://www.google.com.pe/search?sourceid=navclient&hl=es&ie=UTF-8&rlz=1T4SNNT_esPE407PE415&q=PROTECCI%c3%93N+DE+LA+MUCOSA+G%c3%81STRICA+Y+PROLIFERACI%c3%93N+DE+CELULAR+EI+rol+del+flujo+sangu%c3%adneo+mucoso%3a+una+revisi%c3%b3n+concepcion+al+en+el+da%c3%b1o+de+la+mucosa+g%c3%a1strica+y+su+protecci%c3%b3n+SUNAO+KAWANO+AND+SHINGO+TSUJI+Traducido+por+Felipe+Camacho+y+Mar%c3%ada-Jos%c3%a9+Arredondo

43. Kossmann I., Vicente C., Salud y Plantas Medicinales Editorial Planeta, pág.116-117., 1992.

44. Lasalud.com

Citado: 14:00 horas, 20 Octubre 2011, disponible en World Wide Web: http://www.lasalud.com/pacientes/ulcera_peptica.htm

- 45. Limdi Jk y Hyde Gm.**, Evaluación de las pruebas de función hepática anormales, Revista: Postgraduate Medical Journal 79 (932): 307-312, 2003.
- 46. Litter Manuel**, Compendio de Farmacología 4° edición Editorial el Ateneo, 1988.
- 47. Llantén**
- Citado: 14:00 horas horas, 27 Enero 2011. Disponible en:
<http://www.mijardinsecreto.cl/pdf/llanten.pdf>
- 48. Manual Laboratorio Valtek S.A.**, 2011- Web site:
<http://www.valtekdiagnostics.com> – REV N°2.
- 49. Medina Gonzales Andres D., García Álvarez Ricardo J., Ramos Hernández Leonardo**, “Efecto Antihepatotóxico de la Cúrcuma Longa” Instituto Superior de Ciencias Médicas Santiago de Cuba.
- 50. Mendoza Patiño Nicandro**, Farmacología Médica, Universidad Nacional Autónoma de México, Editorial Médica Panamericana S.A. de C.V., 2008.
- 51. Ministerio de Salud**, Formulario Nacional de Medicamentos Esenciales, 2000.
- 52. Molero Gómez, R., Sacristán de Lama, M.^a P., López Arranz, C., Mangues Bafalluy, I., Socias Manzano, M.^a S., Piñeiro Corrales, G.**, “Utilización Terapéutica Del Omeprazol”, Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria-Comisión Técnica de Evaluación Terapéutica, 1997.
- Citado: 14:00 horas, 10 Enero 2012, pp. 243-256. Disponible en:
http://www.sefh.es/revistas/vol21/n5/243_256.PDF
- 53. Ochoa Christiam, Granda Cecilia, Chapoñan Martín, Borja Rubén, Borjas Paulo, Ortiz Jhon, Ugaz Graciela, Puerta Eberth, Pucutay Mario**, Efecto Protector de *Peumus boldus* en ratas con toxicidad hepática inducida por Paracetamol, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú, 2008.

- 54. Peláez Pulce Pedro Segundo y Herencia Chiclayo Dagy Fressia,** Determinación y Evaluación de la Actividad Antibacteriana In Vitro de una Crema de Plantago Major (Llantén) en Escherichia coli, Pseudomona aeruginosa y Bacillus subtilis”- Revista Fitofarmacológica Internacional 2006.
- Citado: 12:00 horas, 19 Febrero 2011. Disponible en la World Wide Web: <http://fitointernacional.blogspot.com/2006/10/determinacin-y-evaluacin-de-la.html>
- 55. Peretta Marcelo Daniel,** Reingeniería Farmacéutica Principios: Principios Y Protocolos de la atención al paciente 2° Edición, Editorial Medica Panamericana, 2005.
- 56. Pocock Gilliam, Richard Christopher D.,** Fisiología Humana la Base de la Medicina 2° Edición Editorial Masson S.A., 2005.
- 57. Prieto Valtueña J. M., Yuste Ara J. R.,** Balcells, La clínica y el Laboratorio: Interpretación de Análisis y Pruebas Funcionales, Exploración de Los Síndromes, Cuadro Biológico de las Enfermedades, 21° Edición, Editorial El Sevier Masson, 2010.
- 58. “Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo – Subprogramas para el Químico Farmacéutico”.** Proyecto para la búsqueda de principios bioactivos en plantas de la región. Manual de ciencias de la Investigación 2° Edición. Lima – Perú, 1995.
- 59. Quezada Domínguez Abraham,** Introducción al Manejo de Animales de Laboratorio: roedores y pequeñas especies, Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatan Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” unidad de ciencias biomédicas, 1997.
- 60. Química:** Técnicas de separación, Filtración, Cristalización, Extracción, Destilación y Medidas.

Citado: 08:00 horas, 10 de abril del 2011. Disponible en la World Wide Web:
http://html.rincondelvago.com/quimica_121.html

- 61. Rajender Reddy K., Long William B.,** Los Requisitos en Gastroenterología: Tracto Hepatobiliar y Páncreas Volumen 3, Mosby INC.an Elsevier , 2005.
- 62. Ramírez Aguilera Silvia, Martínez Zarate Elizabeth, Arroyo Moreno Ignacio,** Uso del *Plantago major* en el Tratamiento de Micosis en la piel, Universidad Autonoma metropolitana.
- 63. Repetto Jiménez Manuel, Repetto Kuhn Guillermo,** Toxicología Fundamental, 4° Edición, Ediciones Díaz de Santos, 2009.
- 64. Reporte de Incidencias de Enfermedades Gástricas y Hepáticas de la Provincia de Cusco- DIRESA (2007-2010),** Dirección Regional de Salud Cusco, Director del Departamento de Epidemiología Dr. Pablo Fidel Grajeda Ancca, 2011.
- 65. Roche Diagnostics S. L.,** con la colaboración del Grupo de Investigación en Atención Farmacéutica de la Universidad de Granada, 2005.
- Citado: 13:00 horas, 25 Junio 2011. Disponible en la World Wide Web:
http://www.rapidcontrol.es/descargas/03_atencion/GPT-higado/DossierFarmaceutico.pdf
- 66. Rodés Juan, Ben Hamon, Bircher Johannes, Mc Lntyre Neil, Rizzetto Mario,** Tratado de Hepatología Clínica 2° Edición Tomo II.
- 67. Roersch Carlos, Van Der Hoogte Liesbeth,** Plántas Medicinales del Surandino del Perú, Centro de Medicina Andina 1° Edición, Lima –Perú, 1988.
- 68. Sisamón Ignacio A.,** Acerca de la Hepatotoxicidad del Paracetamol, Revista del Hospital Privado de Comunidad, Vol 6, 2003.

Citado: 07:30 horas, 18 Octubre 2011, p.310-323. Disponible en la World Wide Web: <http://www.hpc.org.ar/images/revista/300-v6n2p42.pdf>

69. Taylor Magali, Reide Peter, Lo esencial en Farmacología cursos CRASH de MOSBY” versión en español de la 1ª edición de la obra original en inglés Harcourt Brace de España S.A., 1999.

70. Velázquez, Lorenzo P., Moreno A., Leza J. C., Lizasoain y Moro A., Farmacología Básica y Clínica 17º Edición, Editorial Madrid Médica Panamericana, Buenos Aires 2004.

71. Villar del Fresno Angél M., Farmacognosia General Editorial Síntesis S.A., 1999.

72. Wikipedia La Enciclopedia Libre, Etanol.

Citado: 14:00 horas, 15 de Octubre del 2011. Disponible en la World Wide Web: <http://es.wikipedia.org/wiki/Etanol>

73. Wikipedia La Enciclopedia Libre, Omeprazol.

Citado: 17:00 horas, 15 de Octubre del 2011. Disponible en la World Wide Web: <http://es.wikipedia.org/wiki/Omeprazol>

74. Wikipedia La Enciclopedia Libre, *Plantago major*.

Citado: 17:30 horas, 20 Enero 2011. Disponible en la World Wide Web: http://es.wikipedia.org/wiki/Plantago_major

75. Wikipedia La Enciclopedia Libre, Sucralfato.

Citado: 14:00 horas, 15 de Octubre del 2011. Disponible en la World Wide Web: <http://es.wikipedia.org/wiki/Sucralfato>

76. XIII Simposio de Plantas Medicinales de Brasil, Resumen de temas libres,
20 -23 de setiembre de Fortaleza, Brasil, 1994.

Citado: 11:00 horas, 19 Octubre 2011. Disponible en la World Wide Web:
<http://www.angelfire.com/ar/plantasmedicinales/monograf2.html>

ANEXOS

ANEXO N°01: Herbario Vargas

LA QUE SUSCRIBE DIRECTORA DEL HERBARIO CUZ

CERTIFICA

Que, las Bachilleres: **ZAMALLOA CHÁVEZ, YESSICA** y **PFUYO TUNI, ROSA**; con el expediente N° 11466, de la Carrera Profesional de **Farmacia y Bioquímica**, Facultad de Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas, Farmacia e Informática de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; han presentado una muestra botánica herborizada al Herbario CUZ para su determinación.

Dicho material ha sido sometido a una diagnosis en base a claves taxonómicas, análisis morfológico, filogenético y en comparación con las muestras existentes en el herbario de la que se desprende que el material analizado corresponde a la especie *Plantago major* L. Siendo su posición taxonómica de acuerdo al Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist (1981)

Reino : Plantae
División : Magnoliophyta
Clase : Magnoliopsida
Subclase : Asteridae
Orden : Plantaginales
Familia : Plantaginaceae
Género : *Plantago*
Especie : *Plantago major* L.
N. vulgar : Llantén

Se le expide, el presente certificado de identificación de la especie para los fines que vieran por conveniente

Cusco, 04 de Agosto de 2011

Arch/HV CUZ



Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco
Herbario Vargas (CUZ)

M. Sc. Fructuosa De La Torre Mavorga
Directora

ANEXO N°02: Certificado Sanitario



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 090-2011

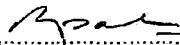
Producto	: Rata Albina	Lote N°	: R - 05 - 2011
Especie	: <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad	: 50
Cepa	: Holtzman	Edad	: 2 a 2.5 meses
Peso	: 200 a 250 gr.	Sexo	: Machos
B.V. N°	: 004-13493 GR: 023601	Destino	: Rosa Reyna Pfuyo Yuni y Yessica Zamalloa Chávez CUSCO
Lima	: 19-05-2011		

El Médico Veterinario, que suscribe, **Arturo Rosales Fernández**, Coordinador de Bioterio, Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.

*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 19 de Mayo del 2011
(Fecha de emisión del certificado)

NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.


M.V. Arturo Rosales Fernández
C.M.V.P. 1586

**ANEXO N° 3: FICHA ESTRUCTURADA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS
DE LAS PRUEBAS DE SOLUBILIDAD**

PRUEBAS DE SOLUBILIDAD		
EXTRACTO:		
FECHA:		
SOLVENTE	T°A	T° CORPORAL 37°C
Agua destilada		
Metanol		
Etanol 40%		
Etanol 50%		
Etanol 70%		
Etanol 90%		
Acetona		
Acetato de etilo		
Cloroformo		
Éter etílico		
Benceno		
Hexano		
Éter de petróleo		
Bencina		

Leyenda:

- ++++ : Totalmente soluble
- +++ - : Parcialmente soluble
- ++ - - : Poco soluble
- + - - - : Muy poco soluble
- - - - : Insoluble

ANEXO N° 4: FICHA ESTRUCTURADA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO		
METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVO	RESULTADOS
Glicósidos	Benedict modificado	
Azúcares reductores	Benedict	
Aminoácidos	Ninhidrina	
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	
Flavonoides	Shinoda Amoniaco	
Taninos	Acetato de plomo	
Alcaloides	Dragendorf Mayer	
Saponinas	Afrosimétrico	
Triterpenoides y esteroides	Lieberman – Burchard	
Quinonas	Benedict	

Leyenda:

- +++** : Abundante cantidad
- +-** : Moderada cantidad
- +--** : Escasa cantidad
- : Negativo

ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

Estas pruebas rápidas para forrajes consisten en la evaluación cualitativa (por cambios de coloración) de la presencia de metabolitos secundarios como son los fenoles, esteroides, alcaloides, flavonoides, saponinas, etc.

DETERMINACIÓN DE SAPONINAS

Índice afrosimétrico o prueba de la espuma

En un tubo de ensayo se colocan 0.5 g de extracto vegetal y se le agrega 10 ml de agua. Se agita vigorosamente por 30 segundos y se deja en reposo durante 15 minutos. Se considera positivo si la espuma sobrenadante tiene una altura mayor 5mm.

DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

Reacción con FeCl₃ (1% en H₂O)

Se toma 0.5 ml de extracto y se reparte en 5 lunas de reloj, añadiendo unas gotas de agua destilada. Se deja un testigo y se adiciona una gota de cloruro férrico en el segundo, dos en el tercero y así sucesivamente hasta llegar al quinto. Coloraciones verdes a marrón para derivados de catecol y coloraciones azuladas para derivados de pirogalol.

DETERMINACIÓN DE TANINOS

Reacción con gelatina- NaCl (1 gr de gelatina + 100 ml H₂O + 10 gr NaCl)

A 0.5 ml de extracto agregar 3 a 5 gotas de la solución gelatina sal. Formación de un precipitado indica prueba positiva.

Reacción con acetato de plomo

A 0.5 ml de extracto agregar 2 a 3 gotas de acetato de plomo. Formación de precipitado indica prueba positiva.

DETERMINACIÓN DE TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES

Reacción de Lieberman- Burchard

Se coloca aproximadamente 0.5 ml de extracto; y se agrega 2 a 3 gotas del reactivo de Lieberman- Burchard. Una coloración azulada o verde para esteroides, rojo, rosado o violeta para triterpenos y amarillo pálido para esteroides o triterpenos saturados.

DETERMINACIÓN DE ALCALOIDES

Reacción de Dragendorf

Se toma 0.5 ml de la solución acida del extracto y agregar 2 a 3 gotas de reactivo de Dragendorf. La formación de un precipitado o coloración roja indica prueba positiva para alcaloides.

Reacción de Mayer

Se toma 0.5 ml del extracto acuoso y agregar 2 a 3 gotas de reactivo de Mayer. La formación de un precipitado blanco o blanco amarillento indica prueba positiva para alcaloides.

Reacción de Wagner

Se toma 0.5 ml de solución acida del extracto y agregar 2 a 3 gotas del reactivo de Wagner. La formación de un precipitado marrón indica prueba positiva para alcaloides.

DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES

Reacción de Shinoda

A una parte del extracto se le agrega un trozo de magnesio y unas gotas de ácido clorhídrico concentrado. Coloración amarilla a roja para flavonas y Flavonoides, rojo a magenta para flavananoles coloca un pequeño, rojo, magenta, Violeta, azul para azul no dan coloraciones isoflavononas, chalconas y auronas.

Prueba del amoniaco

En una tira de papel filtro se coloca una gota del extracto. Se seca y se expone a los vapores de amoniaco. Coloración amarilla para flavonas, flavonoles y xantonas, amarillo-rojo para chalconas y auronas, naranja para dihidroflavonoides, incoloro-naranja para dihidroflavonas y azul para antocianinas.

DETERMINACIÓN DE QUINONAS

Reacción de Benedict

A 0.5 ml del extracto agregar 0.2 ml del reactivo de Benedict, se somete a ebullición por 5 minutos y se deja enfriar. La formación de un precipitado rojo ladrillo indica positivo para azucares reductores.

DETERMINACIÓN DE GLICÓSIDOS

Reacción de Benedict modificado

A 200mg de extracto agregar 2ml de HCl al 1% y reflujas por 5 minutos, enfriar, neutralizar con NaOH al 1% y realizar la reacción de Benedict. La formación de un precipitado rojo ladrillo indica positivo para glicósidos.

DETERMINACIÓN DE AMINOÁCIDOS

Reacción de ninhidrina

A 0.5 ml de extracto acidificado (HCl 1%) calentar por 5 minutos en baño de agua a ebullición. Coloraciones rojizas, violetas o amarillas indican prueba positiva.

**ANEXO N° 5: FICHA ESTRUCTURADA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS
DE LA EVALUACIÓN DEL EFECTO CITOPROTECTOR GÁSTRICO**

TOTAL DE ÚLCERAS PRODUCIDAS POR ESTÓMAGO					
Ratas	Control sin tratamiento	Patrón Sucralfato	Patrón Omeprazol	Dosis 600mg/kg	Dosis 800mg/kg
1					
2					
3					
4					
5					
6					
Índice de ulceración promedio					
Porcentaje de inhibición ulcerogénica					

**ANEXO N° 6: FICHA ESTRUCTURADA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS
DE LA EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL ESTÓMAGO DE RATA**

GRADO DE LESIÓN DE LA MUCOSA GÁSTRICA					
N° de Rata	Control s/tratam.	Patrón I Sucralfato	Patrón II Omeprazol	Dosis 600mg/kg	Dosis 800mg/kg
1					
2					
3					
4					
5					
6					
Promedio					

Leyenda:

- 1: Nada
- 2: Leve
- 3: Moderado
- 4: Severo

**ANEXO N° 7: FICHA ESTRUCTURADA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS
DE LA EVALUACIÓN DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR MEDIANTE
PRUEBAS DE FUNCIÓN HEPÁTICA**

NIVEL DE ENZIMAS HEPÁTICAS		1	2	3	4	5	6
TGO 32-92 UI (64)	<i>Blanco</i>						
	<i>Control</i>						
	<i>Patrón</i>						
	<i>Dosis 400mg/kg</i>						
	<i>Dosis 600mg/kg</i>						
	<i>Dosis 800 mg/kg</i>						
TGP-17-50 UI (32)	<i>Blanco</i>						
	<i>Control</i>						
	<i>Patrón</i>						
	<i>Dosis 400mg/kg</i>						
	<i>Dosis 600mg/kg</i>						
	<i>Dosis 800 mg/kg</i>						
FOSFATASA ALCALINA	<i>Blanco</i>						
	<i>Control</i>						
	<i>Patrón</i>						
	<i>Dosis 400mg/kg</i>						
	<i>Dosis 600mg/kg</i>						
	<i>Dosis 800 mg/kg</i>						
BILIRRUBINAS TOTAL	<i>Blanco</i>						
	<i>Control</i>						
	<i>Patrón</i>						
	<i>Dosis 400mg/kg</i>						
	<i>Dosis 600mg/kg</i>						
	<i>Dosis 800 mg/kg</i>						
BILIRRUBINAS DIRECTA	<i>Blanco</i>						
	<i>Control</i>						
	<i>Patrón</i>						
	<i>Dosis 400mg/kg</i>						
	<i>Dosis 600mg/kg</i>						
	<i>Dosis 800 mg/kg</i>						
BILIRRUBINAS INDIRECTA	<i>Blanco</i>						
	<i>Control</i>						
	<i>Patrón</i>						
	<i>Dosis 400mg/kg</i>						
	<i>Dosis 600mg/kg</i>						
	<i>Dosis 800 mg/kg</i>						

**ANEXO N° 8: FICHA ESTRUCTURADA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS
DE LA EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL HÍGADO DE RATA**

	BLANCO (s/tratam.)	CONTROL (CCl₄)	PATRÓN (Silimarina)	DOSIS 400mg/kg	DOSIS 600mg/kg	DOSIS 800mg/kg
Edema						
Congestión						
Esteatosis						
Necrosis						
Inflamación						
Hepatocitos Reactivos						

Leyenda:

- 0. Nada
- 1. Leve
- 2. Moderado
- 3. Severo

ANEXO N°09 PROCESAMIENTO DE TEJIDOS

1.- FIJACIÓN

Es el proceso mediante el cual los elementos constitutivos de los tejidos son fijados, en cuanto a su estado físico y parcialmente también en su estado químico, de manera que puedan resistir el tratamiento sucesivo con varios reactivos sin distorsión importante de sus estructuras o descomposición. En condiciones ideales un fijador debe penetrar rápidamente al tejido, su acción debe ser inmediata, y debe causar una pérdida y alteración química y física mínima de las células y sus componentes.

La mayoría de fijadores producen cierto endurecimiento tisular, facilitando así el corte; pero generalmente este efecto endurecedor es reforzado por la acción de alcoholes, que son empleados durante el proceso de deshidratación. Los fijadores también aumentan, por lo general, la diferenciación óptica de las estructuras tisulares, y reducen el riesgo de infección en las personas que manejan los tejidos.

La cantidad de fijador debe ser aproximadamente 10 a 20 veces el volumen de la muestra, debe colocarse en frascos preferentemente de plástico. El fijador empleado rutinariamente es el formol al 10% en solución acuosa o en solución acuosa tamponada (formol neutro).

2.- DESHIDRATACIÓN

Los tejidos contienen grandes cantidades de agua que deben ser eliminados y reemplazados por parafina. Este proceso se denomina deshidratación, y el mejor agente para ello es el alcohol etílico.

La deshidratación se logra mejor utilizando alcoholes de menor a mayor concentración, no es aconsejable el paso directo del tejido del formol al alcohol concentrado ya que provoca distorsión del tejido. Los alcoholes deben ser

renovados dependiendo de la frecuencia de uso y de la cantidad de tejidos introducidos en ellos; se descarta el primer recipiente de alcohol y el segundo queda como primero; en el último se coloca de nuevo alcohol absoluto.

El volumen de alcohol debe ser aproximadamente 10 veces el volumen del tejido a deshidratar. El esquema que se sigue es el siguiente:

Formol al 10% 24 horas

Alcohol etílico 70^a por 1.5 horas

Alcohol etílico 70^a por 1.5 horas

Alcohol etílico 70^a por 1.5 horas

Alcohol etílico absoluto 99.7^a por 1.5 horas

Alcohol etílico absoluto 99.7^a por 1.5 horas

Alcohol etílico absoluto 99.7^a por 1.5 horas

Xilol por 1 hora

Xilol por 1 hora

Parafina por 1 hora

Parafina por 1 hora

3.- ACLARAMIENTO (Desalcolización)

Permite que el alcohol de los tejidos sea reemplazado por un líquido que disuelva la parafina con la cual el tejido va a ser impregnado. Además, muchas de estas sustancias tienen la propiedad de volver transparentes los tejidos. También se utiliza para la desalcoholización de los cortes teñidos, antes de montarlos en Entellan.

El solvente de parafina más usado es el Xilol, el volumen mínimo debe ser 10 veces el volumen del tejido. Nunca debe dejarse los tejidos en Xilol más de 3 horas; si no es difícil hacer los cortes.

Cuando la deshidratación no es completa, el Xilol toma un aspecto lechoso cuando se añade el tejido.

4.- INCLUSIÓN

Comprende la impregnación de los tejidos con un medio que llene todas las cavidades naturales, y que proporcione la consistencia firme necesaria para hacer cortes bien delgados sin provocar distorsión.

La inclusión en parafina es la más usada y más simple. Un sustituto de la parafina es el Paraplast (combinación de parafina con polímeros plásticos), actualmente se viene utilizando está última. El volumen del medio de impregnación debe ser aproximadamente 25 veces mayor que el volumen del tejido.

Los moldes para bloques son de varios tipos el actualmente utilizado son los moldes plásticos (cassettes) que consisten en una base de plástico dentro de la cual se incluye la pieza tisular. Luego se pone encima una tapa de plástico.

5.- MICROTOMOS

Equipo rotatorio semiautomático que se utiliza para el corte donde el bloque se acerca progresivamente a la cuchilla que se ubica con el filo hacia arriba rebajando el tejido hasta conseguir el grosor ideal de 2 a 3 micras, esto reduce la superposición de núcleos.

6.- TINCIÓN

La tinción de los cortes histológicos permite estudiar y conocer las características físicas de los tejidos y las relaciones entre las células que los constituyen.

Se efectúa usando mezclas de sustancias químicas denominadas colorantes, los cuales se pueden clasificar como ácidos, básicos o neutros. Los componentes de los tejidos que se tiñen con colorantes básicos se denominan basófilos; reciben el nombre de acidófilos aquellos que se unen a colorantes ácidos.

El azul de metileno y hematoxilina son ejemplos de colorantes básicos, que reaccionan con los componentes más importantes de los tejidos que son las nucleoproteínas y los glucosamino glicanos ácidos. Y colorantes ácidos tales como fucsina ácida y la eosina tiñen principalmente los componentes básicos de las proteínas citoplasmáticas.

El procedimiento de coloración consiste en embeber las láminas en agua de caño, luego colorear con Hematoxilina y nuevamente lavar, para luego introducir la lámina en alcohol ácido al 1% y nuevamente lavar. Después se procede a introducirla en agua amoniacal, lavar y colorear con Eosina; seguidamente se lava y se introduce en alcohol corriente, luego en alcohol absoluto, en Xilol, para finalmente proceder al Montaje.

Los resultados que debemos obtener es el núcleo coloreado de azul, y el citoplasma y otras estructuras tisulares coloreadas de rosado-rojo.

7.- MONTAJE

Es el paso final en la preparación de una lámina, que consiste en cubrir la porción que contiene el tejido con una laminilla, esto hace a la lámina permanente y permite el examen microscópico.

ANEXO N° 10
VALORES DE REFERENCIA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

ESPECIES	Glucosa mmol/L	Urea mmol/L	Colesterol Total mmol/L	Proteína			Amino- transferasa Asparato (AST, SGOT) U/L	Amino- transferasa Alanina (ALT, SGPT) U/L	Fosfatasa Alcalina U/L
				Total g/L	Albúmina g/L	Globulina g/L			
GATO ^a	3.89-6.11 (5.05±0.42)	14.28-21.42	2.46-3.37	54-78 (66±7)	21-33 (27±2)	26-51 (39±7)	26-43 (35±0)	6-83 (26±16)	25-93 (50±25)
POLLO ^a		(9.30)		(56)	(25)	(31)	(175)		
VACA ^a	2.5-4.16 (3.19±0.38)	14.28-21.42	2.07-3.11	67-75 (71±2)	30-35 (33±1)	30-35 (32±2)	78-132 (105±27)	14-38 (27±14)	0-488 (194±126)
PERRO ^a	3.61-6.55 (5.05±0.67)	7.14-19.99 (12.14±2.86)	3.50-6.99 (4.61±0.98)	54-71 (61±5)	26-33 (29±2)	27-44 (34±5)	23-66 (33±12)	21-102 (47±26)	20-156 (69±36)
CABRA ^a	2.78-4.16 (3.49±0.39)	7.14-14.28 (10.71±1.43)	2.07-3.37	64-70 (69±5)	27-39 (33±3)	27-41 (36±5)	167-513	24-83	93-387 (219±76)
COBAYO ^a Hartley (500-800g)	4.94-5.29 (5.12)	15.35-17.99 (16.67)		48-56 (52)	24-27 (25)		46-48 (47)	38-45 (41)	66-74 (70)
HÁMSTER ^a Siriano (100g)	3.61-4.07 (3.84)	14.85-21.49 (18.33±3.08)	4.71-6.13 (5.42)	64-73 (67±5)	32-37 (35±2)		53-124 (79±32)	21-50 (35±11)	8-18 (13±5)
CABALLO ^a	4.16-6.39 (5.30±0.47)	7.14-17.14	1.94-3.89 (2.89±0.04)	52-79 (63±6)	26-37 (31±3)	26-40 (33±7)	226-366 (296±70)	3-23 (14±11)	143-395 (244±101)
RATON ^a CD-1 (Crl:CD-1)(CRJBR) ⁺	9.71-18.60 (15.00)	12.14-20.59 (16.07)	1.27-2.48 (1.89)	42-60 (51)	21-34 (28)	18-82 (22)	55-251 (139)	28-181 (95)	28-94 (67)
CF-1 (Crl:CF-1BR) ⁺	9.10-20.48 (14.46)	8.57-19.99 (14.99)	2.72-4.16 (3.49)	54-65 (60)	30-40 (35)	18-31 (24)	30-314 (177)	76-208 (143)	67-303 (167)
B6C3F1 (B6C3F1/CrBR) ⁺	7.6-26.0 (17.3)	4.3-13.5 (7.85)	1.53-3.63 (2.29)	47-60 (52)	26-34 (30)	17-29 (22)	0-111 (43)		46-289 (207)
PRIMATE NO HUMANO Babuño (<i>Papio sp</i>) ⁺	(6.72±1.16)			(63±6)	(37±4)		(25±3)	(16±4)	
<i>Cynomolgus</i> (<i>M. fascicularis</i>) ⁺	2.20-4.70	3.80-10.00	1.91-4.52	68-86	34-45	27-47	9-68	0-138	102-1163

ESPECIES	Glucosa mmol/L	Urea mmol/L	Colesterol Total mmol/L	Proteína			Amino- transferasa Aspartato (AST, SGOT) U/L	Amino- transferasa Alanina (ALT, SGPT) U/L	Fosfatasa Alcalina U/L
				Total g/L	Albumina g/L	Globulina g/L			
Rhesus (<i>M. m. sativa</i>) ^a	3.88±0.57	12.07-14.85 (13.46)	3.31-4.43 (3.87)	66-80 (73±8)	43-44		27-73 (55±27)	27-42 (35)	(149)
CERDO ^b	4.72-8.33 (6.67±0.95)	7.41-21.42	0.93-1.40	73-80 (74±7)	(26±7)	53-64 (58±6)	92-84 (67±26)	31-58 (45±14)	118-305 (194±84)
CONEJO ^c	2.78-5.18 (4.08±0.53)	(10.21±2.14)	0.74-1.06 (0.89±0.41)	(64±3)	(27±3)		(47)	(79)	(120±14)
RATA ^d Wistar(Crl:(W)BR) ^e	4.71-7.33 (6.22)	11.42-19.28 (14.64)	1.20-2.38 ^f (1.79)	63-86 (73)	33-49 (47)	24-39 (31)	39-92 (64)	17-50 (32)	33-216 (123)
F-344 ^g CDF(F-344)CrlBR	4.24-20.04 (10.95)	7.85-19.99 (10.00)	0.54-2.22 (1.29)	60-78 (65)	34-43 (39)	24-35 (29)	56-438 (233)	108-375 (232)	147-303 (249)
CD(Crl:CD(SD)BR) ^h	5.55-16.71 (11.68)	9.28-22.13 (14.64)	1.18 (0.52-1.914)	59-79 (70)	29-44 (38)	26-39 (32)	30-262 (128)	110-274 (216)	46-264 (161)
CARNERO ⁱ	2.78-4.44 (3.90±0.33)	5.71-14.28	1.34-1.97 (1.66±0.31)	60-79 (72±5)	24-30 (27±2)	35-57 (44±5)	(307±43)	(30±4)	68-387 (178±102)

- ^a Errores con promedio y desviación estándar entre paréntesis. En unidades I.S.
- ^b KANEKO, J.J., ed. Clinical chemistry of domestic animals. Academic Press, 1989: 886-891.
- ^c LOEB, W.F. and QUIMBY, F.W., eds. The Clinical Chemistry of Laboratory Animals. Pergamon Press, 1989: 417-476.
- ^d Ambos sexos, 19-21 semanas.
- ^e Hematología basal y valores de hematología clínica del ratón Charles River outbred: Crl:CD-1(ICR)BR. Crl:CF-1BR. Charles River Laboratories Techn. Bull., 1986.
- ^f Valores del Parke Davis Research Institute, Mississauga, Ontario.
- ^g CLARKE, D., TUPASI, G., WALKER, R. and SMITH, G. Estabilidad de los parámetros bioquímicos séricos en perros Beagle y monos *Cynomolgus*. Clin. Chem. Newsl. (En prensa).
- ^h Hematología basal y valores de hematología clínica de ratas Charles River Wistar (CRL:(W)BR) en función de sexo y edad. Charles River Techn. Bull., Vol. 1, No. 2, 1982.
- ⁱ Hematología basal y valores de hematología clínica de ratas Charles River Fischer-344 - CDF(F-344)CrlBR en función de sexo y edad. Charles River Techn. Bull., Vol. 3, No. 1, 1984.
- ^j Hematología basal y valores de hematología clínica de ratas Charles River CD[Crl:CD(SD)BR] en función de sexo y edad. Charles River Techn. Bull., Vol. 3, No. 2, 1984.

ANEXON°11 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE FUNCIÓN HEPÁTICA

GRUPOS	TGO 32-92 UI (64)	TGP 17-50 UI (32)	FOSFATASA ALCALINA 39-216 UI (123)	BILIRRUBINAS		
				TOTAL 0.3- 1.9 mg/dl	DIRECTA 0- 0.3 mg/dl	INDIRECTA 0.3-1.6 mg/dl
BLANCO	78.0	34.92	121.5	0.45	0.06	0.40
BLANCO	72.0	33.02	147.8	0.94	0.10	0.84
BLANCO	64.34	28.46	126.1	0.51	0.07	0.44
BLANCO	65.15	24.90	138.4	0.67	0.09	0.58
BLANCO	70.89	23.20	140.2	0.49	0.07	0.42
BLANCO	74.13	29.68	141.0	0.56	0.08	0.48
CONTROL	117.13	100.53	240.2	3.12	0.34	2.78
CONTROL	128.67	91.80	305.9	2.84	0.25	2.59
CONTROL	130.84	107.87	248.6	2.31	0.18	2.13
CONTROL	132.53	113.40	249.8	2.30	0.22	2.08
CONTROL	119.20	104.20	251.5	2.69	0.19	2.50
CONTROL	120.22	110.08	263.0	2.87	0.29	2.58
PATRON	85.40	37.04	145.5	1.50	0.14	1.36
PATRON	90.87	35.96	173.4	0.89	0.12	0.77
PATRON	89.46	36.68	164.1	0.84	0.11	0.73
PATRON	91.57	39.76	168.6	1.38	0.15	1.23
PATRON	92.95	38.50	170.3	0.91	0.13	0.78
PATRON	93.13	40.02	171.2	1.45	0.15	1.30
DOSIS 400mg/kg	81.00	30.04	180.6	1.50	0.17	1.33
DOSIS 400mg/kg	84.98	36.36	192.2	1.18	0.15	1.03
DOSIS 400mg/kg	79.21	36.28	190.7	1.61	0.19	1.42
DOSIS 400mg/kg	82.34	37.04	188.8	1.20	0.16	1.04

DOSIS 400mg/kg	83.40	33.00	194.6	1.25	0.17	1.08
DOSIS 400mg/kg	78.18	32.31	204.4	1.52	0.18	1.34
DOSIS 600mg/kg	54.47	33.76	172.0	0.70	0.10	0.60
DOSIS 600mg/kg	66.53	28.87	179.5	0.96	0.14	0.82
DOSIS 600mg/kg	59.62	33.27	184.3	0.85	0.14	0.71
DOSIS 600mg/kg	57.84	30.18	210.4	0.80	0.12	0.68
DOSIS 600mg/kg	62.23	25.81	197.2	0.73	0.10	0.63
DOSIS 600mg/kg	21.35	22.52	190.7	0.78	0.11	0.67
DOSIS 800mg/kg	72.80	26.28	182.8	0.89	0.14	0.84
DOSIS 800mg/kg	76.87	20.52	169.8	1.55	0.17	1.38
DOSIS 800mg/kg	70.63	24.24	163.4	0.94	0.15	0.79
DOSIS 800mg/kg	73.24	25.01	155.5	0.98	0.16	0.82
DOSIS 800mg/kg	69.61	19.81	140.9	1.01	0.16	0.85
DOSIS 800mg/kg	72.52	20.92	159.3	1.32	0.16	1.16

Leyenda:

Blanco: Sin tratamiento

Control: Tratamiento con tetracloruro de carbono

Patrón: Tratamiento Silimarina

Dosis 400mg/kg: Tratamiento con extracto de *Plantago major* L. 400mg/kg

Dosis 600mg/kg: Tratamiento con extracto de *Plantago major* L. 600mg/kg

Dosis 800mg/kg: Tratamiento con extracto de *Plantago major* L. 800mg/kg

ANEXO N° 12: FICHA DE ADMINISTRACIÓN DE DOSIS

GRUPO	PESO .../.../...	Dosis de Extracto y/o Patrón (ml)	Dosis de CCl ₄ (ml)	Hora de administración de		
				Extracto y/o Patrón (ml)	CCl ₄ (ml)	Extracto y/o Patrón (ml)
Blanco						
Blanco						
Blanco						
Blanco						
Blanco						
Blanco						
Control						
Control						
Control						
Control						
Control						
Control						
Patrón						
Patrón						
Patrón						
Patrón						
Patrón						
Patrón						
Dosis 400mg/kg						
Dosis 400mg/kg						
Dosis 400mg/kg						
Dosis 400mg/kg						
Dosis 400mg/kg						
Dosis 400mg/kg						
Dosis 600mg/kg						
Dosis 600mg/kg						
Dosis 600mg/kg						
Dosis 600mg/kg						
Dosis 600mg/kg						
Dosis 800mg/kg						
Dosis 800mg/kg						
Dosis 800mg/kg						
Dosis 800mg/kg						
Dosis 800mg/kg						

ANEXO N° 13: ARCHIVO FOTOGRÁFICO



FOTOGRAFÍA N° 01

En la fotografía se muestra la recolección de la especie vegetal *Plantago major* L. (llantén).



FOTOGRAFÍA N° 02

En la fotografía se muestra el secado de las hojas de la especie vegetal *Plantago major* L. (llantén).



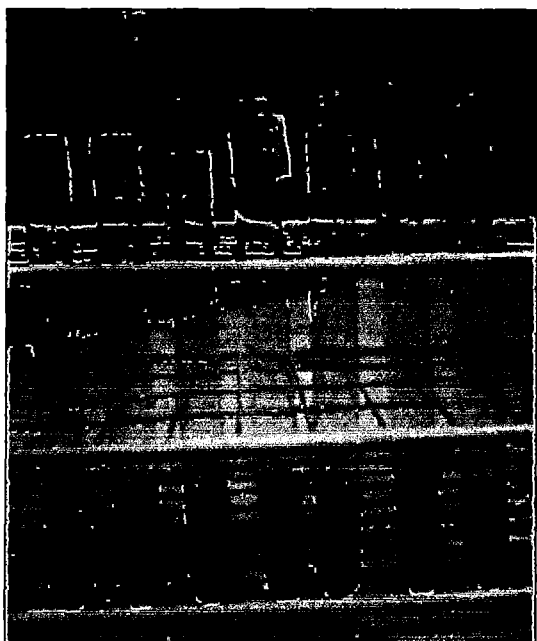
FOTOGRAFÍA N° 03

En la fotografía se muestra el método de extracción por Maceración Simple.



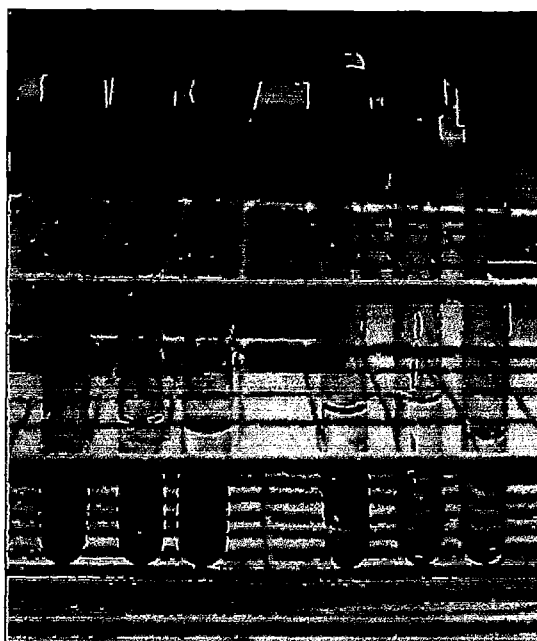
FOTOGRAFÍA N° 04

En la fotografía se muestra la evaporación de los extractos en una estufa a 35°C.



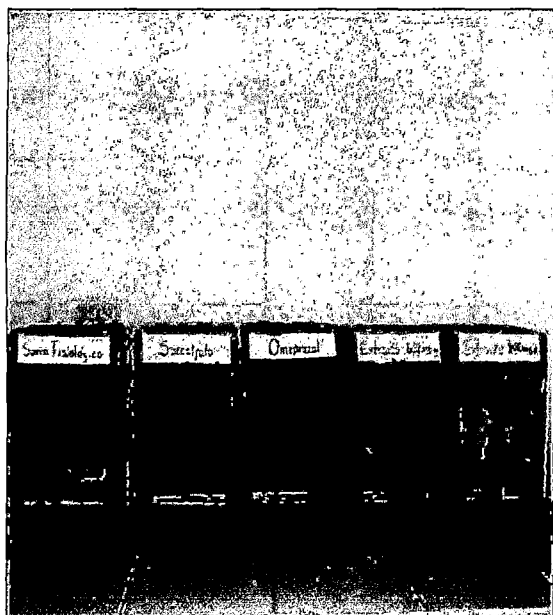
FOTOGRAFÍA N° 05

En la fotografía se muestra la prueba de solubilidad en solventes polares de la especie vegetal *Plantago major* L. (llantén).



FOTOGRAFÍA N° 06

En la fotografía se muestra la prueba de solubilidad en solventes apolares de la especie vegetal *Plantago major* L. (llantén).



FOTOGRAFÍA N° 07

En la fotografía se muestra la distribución de las ratas Holtzman en los diferentes grupos experimentales.



FOTOGRAFÍA N° 08

En la fotografía se muestra la administración del extracto por vía oral con una cánula orogástrica.



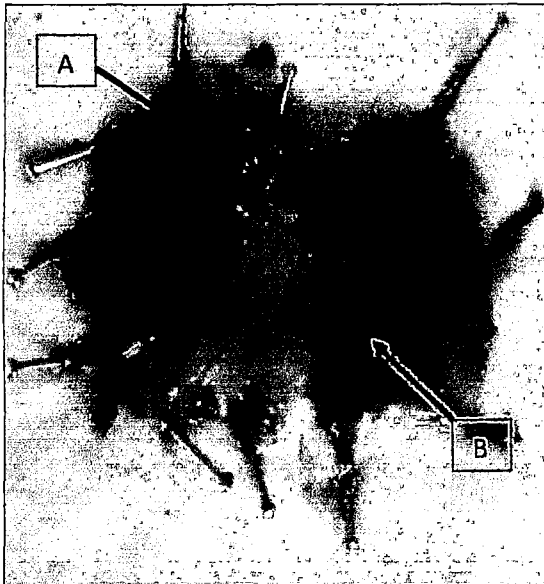
FOTOGRAFÍA N° 09

En la fotografía se muestra la disección de los animales de experimentación para el proceso de extracción de los estómagos.



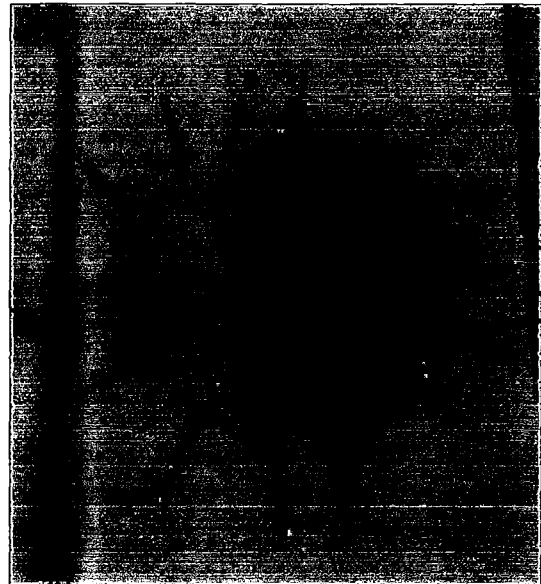
FOTOGRAFÍA N° 10

En la fotografía se muestra el lavado del estómago con suero fisiológico.



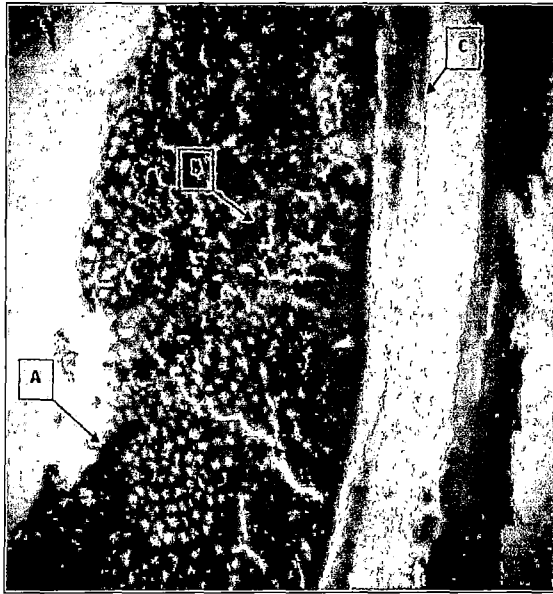
FOTOGRAFÍA N° 11

En la fotografía se observa que el estómago (grupo control) presenta un daño extenso de la mucosa gástrica con desgarro (A) y bandas hemorrágicas (B).



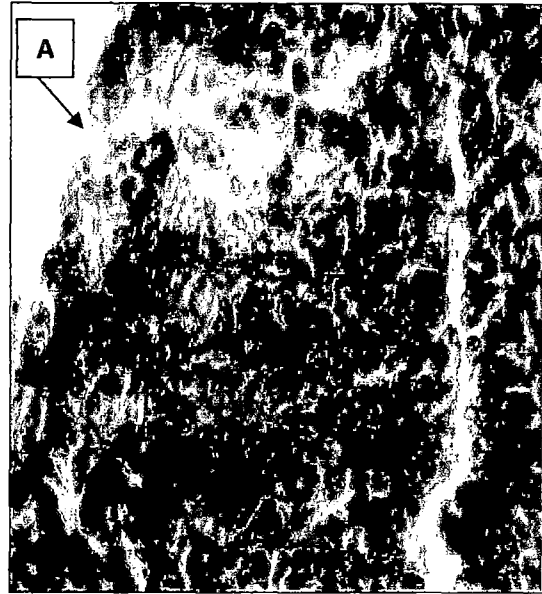
FOTOGRAFÍA N° 12

En la fotografía se observa que el estómago (grupo dosis 800mg/kg) no presenta lesión gástrica aparente.



FOTOGRAFÍA N° 13

En la fotografía se observa erosión epitelial con extensión a criptas gástricas y daño glandular (A), con presencia de congestión extensa (B) y hemorragia (C). Estudio histopatológico del corte transversal del estómago de rata coloreado con Hematoxilina-Eosina.



FOTOGRAFÍA N° 14

En la fotografía se observa epitelio con foco de erosión superficial (A), glándulas gástricas normales. Estudio histopatológico del corte transversal del estómago de rata coloreado con Hematoxilina-Eosina.



FOTOGRAFÍA N° 15

En la fotografía se observa una erosión epitelial leve, con glándulas gástricas y musculares de características normales (A). Estudio histopatológico del corte transversal del estómago de rata coloreado con Hematoxilina-Eosina.



FOTOGRAFÍA N° 16

En la fotografía se observa células epiteliales, criptas gástricas y glándulas gástricas bien conformadas. Estudio histopatológico del corte transversal del estómago de rata coloreado con Hematoxilina-Eosina.



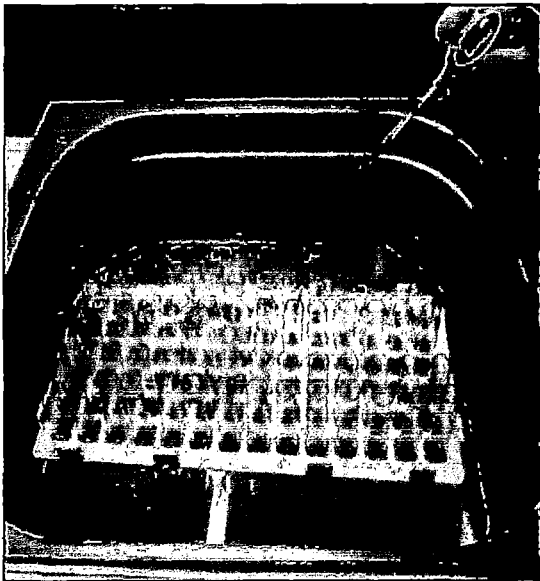
FOTOGRAFÍA N° 17

En la fotografía se muestra la administración del tetracloruro de carbono por vía intraperitoneal.



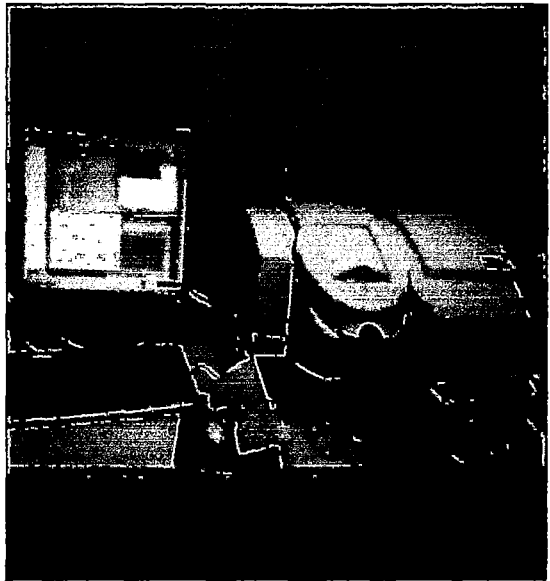
FOTOGRAFÍA N° 18

En la fotografía se observa la toma de muestra de sangre por punción cardiaca.



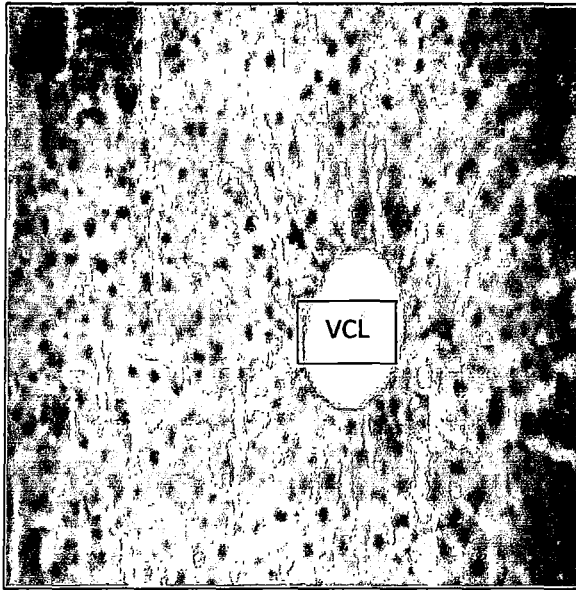
FOTOGRAFÍA N° 19

En la fotografía se observa el proceso de las muestras para la determinación de transaminasas.



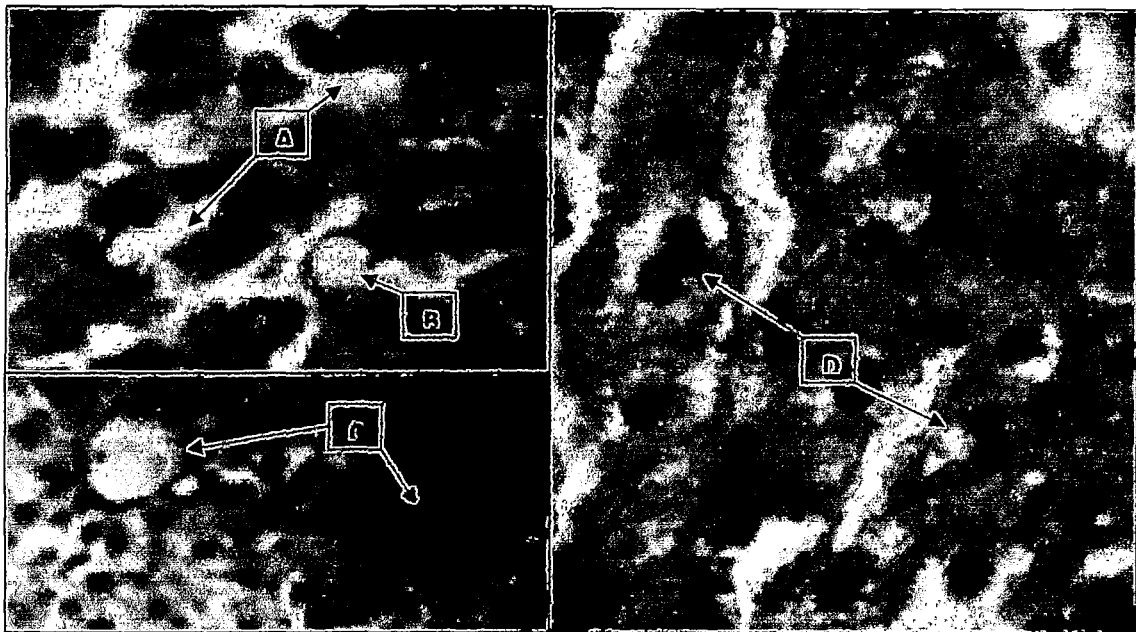
FOTOGRAFÍA N°20

En la fotografía se observa la lectura de las muestras en el espectrofotómetro UV- visible.



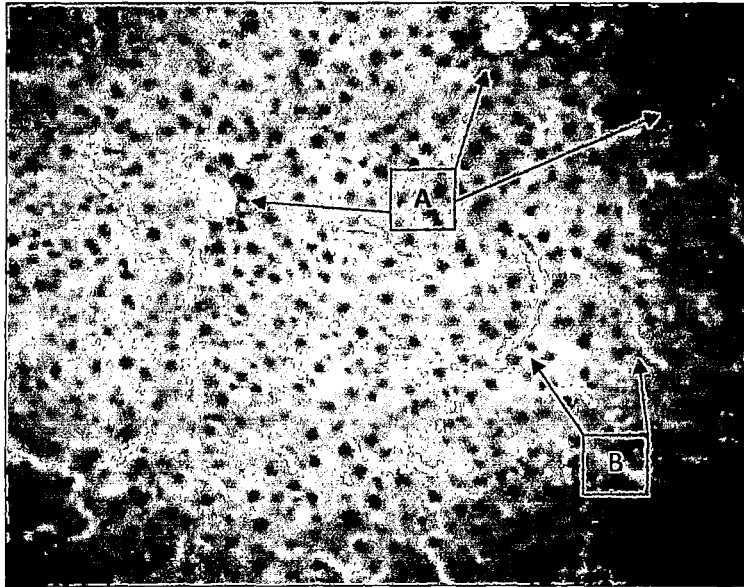
FOTOGRAFÍA N° 21

En la fotografía se observa que no existen signos de congestión, edema, esteatosis y los hepatocitos se encuentran preservados. (VCL: vena centro lobulillar). Estudio histopatológico del corte transversal del hígado de rata coloreado con Hematoxilina-Eosina.



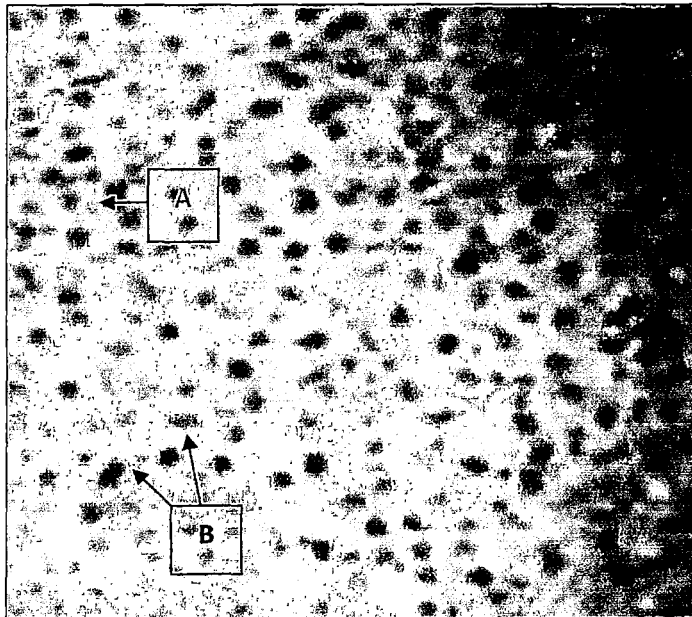
FOTOGRAFÍA N° 22

En la fotografía se observa edema leve (A), esteatosis leve (B), congestión moderada (C), y la presencia moderada de hepatocitos reactivos (D). Estudio histopatológico del corte transversal del hígado de rata coloreado con Hematoxilina-Eosina.



FOTOGRAFÍA N° 23

En la fotografía se observa edema (B) y congestión moderada (A). Estudio histopatológico del corte transversal del hígado de rata coloreado con Hematoxilina-Eosina.



FOTOGRAFÍA N° 24

En la fotografía se observa una leve congestión (A) con presencia leve de hepatocitos reactivos (B) y ausencia de los demás parámetros de lesión. Estudio histopatológico del corte transversal del hígado de rata coloreado con Hematoxilina-Eosina.

ANEXO N° 14: INCIDENCIAS DE ENFERMEDADES HEPÁTICAS Y GÁSTRICAS DE LA PROVINCIA DE CUSCO DIRESA 2007-2010

COD_CAT	DESC_ENF	COD_CAT	DESC_ENF	2007	2008	2009	2010	TOTAL
CUSCO	ENFERMEDAD ALCOHOLICA DEL HIGADO	K70	Cirrosis Hepatica Alcoholica	58	52	58	52	220
			Enfermedad Hepatica Alcoholica, no Especificada	10	7	11	10	38
			Fibrosis y Esclerosis del Hígado, Alcoholica				1	1
			Hepatitis Alcoholica	1	14	6		21
			Higado Alcoholico Adiposo	6	1	15	11	33
			Insuficiencia Hepatica Alcoholica	7	6	6	8	27
			Total K70	82	80	96	82	340
	ENFERMEDAD TOXICA DEL HIGADO	K71	Enfermedad Toxica del Hígado con Cirrosis y Fibrosis del Hígado	1				1
			Enfermedad Toxica del Hígado con Hepatitis Cronica Lobular				1	1
			Enfermedad Toxica del Hígado con Hepatitis no Clasificada en otra parte		1	1		2
			Enfermedad Toxica del Hígado con Necrosis Hepatica			1		1
			Enfermedad Toxica del Hígado, no Especificada	40	45	50	46	181
	Total K71	41	46	52	47	186		
	FIBROSIS Y CIRROSIS DEL HIGADO	K74	Cirrosis Biliar Primaria	3		1		4
			Cirrosis Biliar Secundaria		2			2
			Cirrosis Biliar, no Especificada	2	4	2		8
			Esclerosis Hepatica	1		2	1	4
			Fibrosis Hepatica	3	4	3	3	13
			Otras Cirrosis del Hígado y las no Especificadas	74	103	230	182	589
	Total K74	83	113	238	186	620		
	HEPATITIS CRONICA, NO CLASIFICADA EN OTRA PARTE	K73	Hepatitis Cronica Lobular, no Clasificada en otra parte	2				2
			Hepatitis Cronica Persistente, no Clasificada en otra parte	1				1
			Hepatitis Cronica, no Especificada	6	14	10	2	32
Otras Hepatitis Cronicas, no Clasificadas en otra parte				3			3	
Total K73	9	17	10	2	38			
INSUFICIENCIA HEPATICA, NO CLASIFICADA EN OTRA PARTE	K72	Insuficiencia Hepatica Aguda o Subaguda	2	4	18	7	31	
		Insuficiencia Hepatica Cronica		5	1	3	9	
		Insuficiencia Hepatica, no Especificada	21	13	18	25	77	
		Total K72	23	22	37	35	117	

OTRAS ENFERMEDADES DEL APÉNDICE	K38	Concreciones Apéndice	1	3	4		8
		Enfermedad del Apéndice, no Especificada		2	2	4	8
		Fistula del Apéndice	1				1
		Hiperplasia del Apéndice		1			1
		Otras Enfermedades Especificadas del Apéndice	6	3	2		11
		Total K38	8	9	8	4	29
OTRAS ENFERMEDADES DEL HIGADO	K76	Degeneracion Grasa del Hígado, no Clasificada en otra parte	21	21	31	85	158
		Enfermedad del Hígado, no Especificada	27	45	79	76	227
		Enfermedad Venó-Oclusiva del Hígado			1		1
		Hipertension Portal	1		3	3	7
		Otras Enfermedades Especificadas del Hígado	17	10	12	15	54
		Peliosis Hepatica			2	2	4
		Síndrome Hepatorrenal	3			1	4
		Total K76	69	76	128	182	455
OTRAS ENFERMEDADES INFLAMATORIAS DEL HIGADO	K75	Absceso del Hígado	3	8	4	5	20
		Enfermedad Inflamatoria del Hígado, no Especificada	24	29	75	64	192
		Hepatitis Autoinmune			1	1	2
		Otras Enfermedades Inflamatorias del Hígado, Especificadas	5	1	4	1	11
		Total K75	32	38	84	71	225
TRASTORNOS DEL HIGADO EN ENFERMEDADES CLASIFICADAS EN OTRA PARTE	K77	Trastornos del Hígado en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias Clasificadas en otra Pa	8	28	29	19	84
		Trastornos del Hígado en otras Enfermedades Clasificadas en otra parte	1	1	4		6
		Total K77	9	29	33	19	90
ULCERA DUODENAL	K26	Úlcera Duodenal, Aguda con Hemorragia	7	4	20	22	53
		Úlcera Duodenal, Aguda con Perforacion	2	1	3	1	7
		Úlcera Duodenal, Aguda sin Hemorragia ni Perforacion				1	1
		Úlcera Duodenal, Cronica o no Especificada, con Hemorragia		1	3	3	7
		Úlcera Duodenal, Cronica o no Especificada, con Hemorragia y Perforacion			2		2
		Úlcera Duodenal, Cronica o no Especificada, con Perforacion				2	2
		Úlcera Duodenal, Cronica sin Hemorragia ni Perforacion		2		1	3
		Úlcera Duodenal, no Especificada como Aguda ni Cronica, sin Hemorragia	32	37	22	19	110

		ni Perforacion							
		Total K26	41	45	50	49	185		
ULCERA GASTRICA	K25	Ulcera Gastrica, Aguda con Hemorragia	7	7	34	13	61		
		Ulcera Gastrica, Aguda con Hemorragia y Perforacion			1	1	2		
		Ulcera Gastrica, Aguda con Perforacion		1			1		
		Ulcera Gastrica, Aguda sin Hemorragia ni Perforacion	4	2	6	3	15		
		Ulcera Gastrica, Cronica o no Especificada, con Hemorragia	1	1			2		
		Ulcera Gastrica, Cronica o no Especificada, con Hemorragia y Perforacion					2	2	
		Ulcera Gastrica, Cronica o no Especificada, con Perforacion					1	1	
		Ulcera Gastrica, Cronica sin Hemorragia ni Perforacion	3	3	3	2	11		
		Ulcera Gastrica, no Especificada como Aguda ni Cronica, sin Hemorragia ni Perforacion	28	47	44	35	154		
			Total K25	43	61	88	57	249	
ULCERA GASTROYEYUNAL	K28	Ulcera Gastroyeyunal, Aguda con Hemorragia	1		2	1	4		
		Ulcera Gastroyeyunal, Aguda con Hemorragia y Perforacion		2	1		3		
		Ulcera Gastroyeyunal, Aguda sin Hemorragia ni Perforacion	6	3	1	2	12		
		Ulcera Gastroyeyunal, Cronica o no Especificada, con Hemorragia					1	1	
		Ulcera Gastroyeyunal, no Especificada como Aguda ni Cronica, sin Hemorragia ni Perforacion		1		3	4		
	Total K28	7	6	4	7	24			
ULCERA PÉPTICA, DE SITIO NO ESPECIFICADO	K27	Ulcera Peptica, de Sitio no Especificado, Aguda con Hemorragia	2	2	8	4	16		
		Ulcera Peptica, de Sitio no Especificado, Aguda con Perforacion	5	4	4	1	14		
		Ulcera Peptica, de Sitio no Especificado, Aguda sin Hemorragia ni Perforacion	3	2	1	7	13		
		Ulcera Peptica, de Sitio no Especificado, Cronica o no Especificada, Conperforacion			1		1	2	
		Ulcera Peptica, de Sitio no Especificado, Cronica sin Hemorragia ni Perforacion				1	2	3	
		Ulcera Peptica, no Especificada como Aguda ni Cronica, sin Hemorragia ni Perforacion	76	92	58	35	261		
			Total K27	86	101	72	50	309	
Total CUSCO		533	643	900	791	2867			