

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

# ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Licania platypus* (Hemsl.) Fritsh.

Orozco Aguilar, Josué<sup>1,2</sup>; Chavarría Rojas, Marianela<sup>1,2</sup>; Alvarado Barboza, Gilbert<sup>3,4</sup>; Cordero García, Eugenia<sup>1</sup>; Morales Acuña, Juan Alberto<sup>5</sup>; Retana Salazar, Axel<sup>3,6</sup> y González Camacho, Sara<sup>2,7</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

<sup>2</sup> Laboratorio de Ensayos Biológicos, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

<sup>3</sup> Centro de Investigaciones en Estructuras Microscópicas, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

<sup>4</sup> Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

<sup>5</sup> Servicio de Patología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica.

<sup>6</sup> Escuela de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

<sup>7</sup> Departamento de Fisiología, Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

**Resumen:** La especie *Licania platypus*, localmente conocida como “sonzapote” se encuentra ampliamente distribuida en países tropicales. Tradicionalmente, en América Central se han utilizado diferentes partes de la planta para diversos problemas de salud, especialmente gastrointestinales.

**Objetivo:** Investigar la posible actividad antiulcerosa gástrica del extracto etanólico de hojas de *Licania platypus*.

**Métodos:** Las lesiones gástricas fueron inducidas por los modelos de etanol e indometacina. También, se evaluó el extracto con el modelo modificado de Shay. El extracto se administró por vía oral y se midió el área dañada. Además, se analizaron otros parámetros en el modelo de ligadura pilórica.

**Resultados:** La administración oral de una dosis única del extracto (500 mg/kg) redujo significativamente el área de las lesiones gástricas ( $p < 0.05$ ) en los modelos de inducción de etanol e indometacina. Además, se observó un incremento significativo en la secreción de moco gástrico en el modelo modificado de Shay ( $p < 0.05$ ).

**Conclusión:** El extracto etanólico de *Licania platypus* ejerce un efecto gastroprotector en diferentes modelos de inducción de úlceras agudas. Este trabajo brinda la primera evidencia de especies pertenecientes al género *Licania* con actividad gastroprotectora y permite promover la realización de estudios para elucidar un mecanismo de acción específico.

**Palabras clave:** úlcera gástrica, antiulcerosos, prostaglandinas, moco, antioxidantes.

Fuente: CeCS.

Recibido: 30 Diciembre 2016. Aceptado: 17 Febrero 2017. Publicado: 25 Abril 2017.

Revista electrónica publicada por el Departamento de Farmacología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica, 2060 San José, Costa Rica. © All rights reserved. Licensed under a Creative Commons Unported License.



Contáctenos: [rev.med.ucr@gmail.com](mailto:rev.med.ucr@gmail.com). Tel: (506) 25-11 4492, Fax: 25-11-4489.

## **GASTROPROTECTIVE ACTIVITY OF *Licania platypus* (Hemsl.) Fritsch. LEAVES ETHANOL EXTRACT.**

**Abstract:** *Licania platypus*, locally known as “sonzapote”, is a species distributed in tropical countries. Traditionally, it has been used different anatomical parts in Central America for a variety of health problems, especially gastrointestinal problems.

**Aim:** To investigate the possible gastric antiulcer activity of *Licania platypus* leaves ethanol extract.

**Methods:** Gastric lesions were induced by ethanol and indomethacin models. Also the extract was evaluated in modified Shay rat model. *Licania platypus* extract were previously administered orally and stomach lesions were measured. Besides, other parameters were analyzed in pylorus-ligated model.

**Results:** Oral administration of a unique dose of ethanol extract (500 mg/kg) significantly reduced the area of gastric lesions ( $p < 0.05$ ) on ethanol and indomethacin induction models. Furthermore, it was observed a significant increase of the gastric mucus secretion in modified Shay model ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** *Licania platypus* ethanol extract exerted a gastroprotective effect in different acute ulcer induction models. This work provides the first evidence that species of *Licania* genus has gastroprotective activity and permits further studies to elucidate a specific mechanism.

**Key words:** stomach ulcer, anti-ulcer agents, prostaglandins, mucus, antioxidants.

Source: CeCS:

### **Abreviaturas:**

AU: área de ulceración.

EELp: extracto etanólico de *Licania platypus*.

EtOH: etanol.

H&E: hematoxilina-eosina.

IP: índice de prevención.

MDA: malondialdehído.

RAN: ranitidina.

SUC: sucralfato.

### **INTRODUCTION**

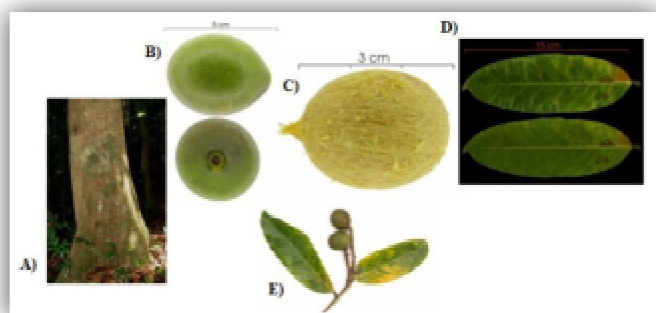
La úlcera péptica es una lesión caracterizada por la pérdida de integridad e inflamación de la mucosa gástrica y/o intestinal [1, 2, 3]. La fisiopatología de las úlceras gástricas está asociada con el desbalance entre mecanismos protectores y corrosivos de la mucosa [4, 5]. Factores como estrés, ingesta de alcohol, exposición a

antiinflamatorios no esteroideos y el fumado están asociados con la depleción de factores gastroprotectores, contribuyendo con la patogénesis de las úlceras gástricas [6, 7].

El tratamiento actual para la enfermedad úlcero péptica tiene como objetivo proteger la mucosa



gástrica e inhibir la secreción ácida. Sin embargo, el uso a largo plazo de estos fármacos resulta en la aparición de importantes efectos adversos, [8, 9]. Además, cada día aumenta notablemente el uso de terapias complementarias a base de plantas medicinales, ya sea por razones de reducción de terapias convencionales o bien por connotaciones de índole socioeconómico [10, 11]. Por esta razón es importante ofrecer y estudiar opciones de tratamiento nuevas y más seguras [12, 13]. Diferentes componentes presentes en extractos de plantas tienen una importante actividad gastroprotectora, convirtiendo a los productos naturales en atractivas opciones de tratamiento para dicha patología [7, 14, 15].



**Figura No. 1. Imágenes de diferentes partes de *Licania platypus*.** Se puede observar en la imagen partes de la *L. platypus* tales como el tronco (A), el fruto comestible (B), la semilla (C) y las hojas (D). Además, en la imagen (E) se puede observar el crecimiento de los frutos de la planta.

Fuente: elaboración propia.

El género *Licania* (Chrysobalanaceae) está compuesto por más de 150 especies distribuidas principalmente en países tropicales y nativas desde México hasta Panamá [16]. *Licania platypus* (Hemsl.) Fritsch. (Código 354056) (Fig. 1), conocida localmente como “sonzapote” o “zapote mechudo”, se encuentra en ambas costas de Costa Rica, pero mayoritariamente en la costa Pacífica y

por debajo de los 950 metros sobre el nivel del mar [17]. Muchas especies de este género han sido estudiadas debido a sus usos etnofarmacológicos, pero específicamente para la especie *L. platypus* existen pocos reportes sobre actividad biológica y usos tradicionales. El objetivo de este estudio es evaluar la actividad gastroprotectora de las hojas de *L. platypus* utilizando varios modelos animales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material Vegetal

Las hojas de *L. platypus* fueron recolectadas el 24 de mayo del 2010 en la Estación Ecoturística Manú en Limón, Costa Rica. El material vegetal fue identificado por Luis J. Poveda Álvarez del herbario “Juvenal Valerio Rodríguez” donde se entregó una muestra de este espécimen (herbario.j.v.r.13918). Las hojas fueron secadas a temperatura ambiente durante dos semanas y pulverizadas con un molino de especies Cuisinart® modelo SG-10.

### Preparación del extracto

El extracto de *L. platypus* (EELp) fue preparado con etanol (EtOH) al 95 % J.T. Baker®. La extracción se realizó con 150 g de hojas pulverizadas y 500 mL del solvente a temperatura de ebullición durante 30 min en un beaker Pyrex® de 1000 mL. Se filtró por gravedad con papel filtro Whatman® de calidad cualitativo y se concentró en 40 °C bajo presión reducida (rotavapor Büchi R-134, baño maría Büchi B-480, controlador de vacío Büchi B-721). Luego se liofilizó para los experimentos (liofilizador LABCONCO® FreeZone 6).

### Biomodelos

Se trabajó con ratas macho de la cepa *Sprague Dawley* (201 ± 35 g de peso y 7 ± 0,5 semanas de edad). El período de aclimatación fue de 5 días bajo condiciones ambientales (Temperatura: 19 ± 0,7 °C a 23 ± 1,0 °C. Humedad relativa: 74,6% ± 5,0% a 89,4% ± 2,8%. Ruido: 81,4 ± 2,2 decibeles. Fotoperíodo de 12 h) en el Bioterio Central del LEBi. Los animales se mantuvieron en cajas de policarbonato (1291H Tipo III H, Tecniplast®. Dimensiones: 425 x 266 x 185 mm) adecuadas

para su tamaño, bajo una dieta con *pellets* para roedores (Concentrados Aguilar & Solís®) suministrada por el Laboratorio de Ensayos Biológicos y agua acidificada (pH 3,0 ± 0,2) *ad libitum*. Se mantuvieron en ayuno 18 horas antes de la inducción de úlceras. Durante este período los animales permanecieron con libre acceso al agua acidificada. Además, para evitar el consumo de otros elementos en el período de ayuno, los animales se colocaron en cajas a las cuales se les adaptó rejillas para aislar parcialmente las heces y la "burucha". Los ensayos con animales se realizaron siguiendo las actuales normas internacionales para el cuidado de animales de laboratorio y las directrices éticas aprobadas por el Comité Institucional de Cuido y Uso de Animales de la Universidad de Costa Rica (aprobación No. CICUA 03-04).

### Tratamientos

La dosis del extracto fue establecida a partir de resultados previos obtenidos al evaluar la toxicidad con diferentes dosis (500-1000-1500-2000 mg/kg) en el modelo de inducción de úlceras por etanol (datos no mostrados), con este se estableció la dosis a utilizar en los ensayos posteriores, la cual fue de 500 mg/kg.

Los tratamientos utilizados en estos modelos se administraron vía oral una hora antes del agente gastrolesivo y fueron preparados al momento de ser administrados. Para cada modelo se contó con 3 grupos experimentales de 6 animales cada uno, el primero al que solamente se le administró vehículo (agua potable, 1 mL/200g) correspondiendo al control negativo, un segundo grupo tratado con SUC (500 mg/kg) como control positivo y el tercero de ellos tratado con EELp (500 mg/kg) como grupo de interés.

### Modelos de ulceración aguda

#### Ulceración gástrica inducida por EtOH

La actividad biológica se evaluó de acuerdo a Mishra [18]. Para esto se administró a cada animal, de los 3 grupos, una dosis oral de alcohol al 95% de 1 mL/kg de peso corporal por medio de una cánula esofágica para roedor (Cadence Science®, 7914).

Dos horas después de la administración del agente lesivo se aplicó eutanasia a los animales por medio de decapitación con guillotina. Los estómagos fueron diseccionados y lavados con solución salina para ser fotografiados con una cámara Canon Digital Ixus 160. Se consideraron lesiones a cualquier alteración de tipo erosiva observada en la mucosa gástrica. La cuantificación de las lesiones gástricas se realizó con el *software* ImageTool 3.0®.

#### Ulceración gástrica inducida por indometacina

El modelo se desarrolló de acuerdo con la metodología de Süleyman [19]. Para esto se administró, vía oral por medio de una cánula esofágica, indometacina (cápsulas M.K. Pharmaceuticals) a una dosis de 45 mg/kg de peso corporal a todos los animales posterior a la administración del tratamiento como se mencionó anteriormente. Luego de un período de 5 horas se aplicó eutanasia a los animales. Los tejidos fueron tratados y analizados de manera como se describió anteriormente.

#### Medición de índice de prevención

En ambos modelos anteriores se realizó la cuantificación de un índice de prevención (IP). Para ello se determinó la sumatoria del total de área gástrica dañada de cada tejido, la cual se consideró como el área de ulceración (AU). El IP se obtuvo a partir de la siguiente fórmula:

$$IP = \left( \frac{AU_{\text{control negativo}} - AU_{\text{tratado}}}{AU_{\text{control negativo}}} \right) \times 100$$

#### Modelo de ligadura pilórica

Se realizó de acuerdo a modificaciones del trabajo de Shay [20]. Rápidamente, 1 hora después del tratamiento se realizó una laparotomía medial bajo anestesia profunda con pentobarbital (Eutanex® Invet) a una dosis de 50 mg/kg de peso corporal, con el objetivo de realizar una ligadura que

bloqueara el paso a nivel del píloro de los animales. Con esto se puede coleccionar los fluidos gástricos para su respectivo análisis. Luego de un periodo de 4 horas posterior a la ligadura pilórica se aplicó eutanasia a los animales por medio de decapitación. Seguidamente se retiraron los estómagos mediante la sujeción del esófago para no perder fluidos gástricos durante este proceso. El tejido gástrico fue macerado con suero salino para análisis posteriores. En este modelo se utilizó como control positivo ranitidina (RAN).

### Medición de parámetros fisicoquímicos en el modelo de ligadura pilórica

Se realizó una incisión en el estómago para coleccionar el contenido gástrico. Este fue centrifugado a 1500 rpm durante 30 minutos. Se cuantificó el volumen y la acidez libre (pH), con un pHmetro marca Thermo Scientific ORIONSTAR A211, del sobrenadante obtenido. La acidez total se determinó mediante la titulación de una alícuota de cada muestra, utilizando NaOH (Laboratorios Químicos Arvi) 0,01 N y fenolftaleína como indicador. La acidez total se expresó como mEq H<sup>+</sup>/L/4h.

### Medición de parámetros bioquímicos en el modelo de ligadura pilórica

Se cuantificó el moco gástrico de acuerdo al método descrito por Li [21], para esto se raspó gentilmente cada órgano con un portaobjetos y la masa de moco se obtuvo por pesadas por diferencia con una balanza analítica Adam® PW254. Estos resultados se reportan como mg de moco/4h en tejido gástrico. La protección *in vivo* y *ex vivo* contra la peroxidación lipídica se realizó mediante la medición de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico de acuerdo al método de Azofeifa [22]. Los resultados se expresan como nmol malondialdehído (MDA)/g de tejido gástrico.

### Histopatología

Para la examinación histopatológica los órganos de todos los sujetos experimentales, en los modelos de inducción de úlceras por etanol e indometacina, se fijaron en una solución de formalina al 10% con amortiguador de fosfatos (Laboratorios Químicos

Arvi). Los tejidos fueron deshidratados por gradiente de alcoholes y posteriormente colocados en bloques de parafina para seccionar. Fueron cortadas secciones de un grosor de 5 µm para luego ser teñidas con hematoxilina-eosina (H&E). El procedimiento para la obtención de las muestras y análisis de las secciones fueron realizadas por un patólogo experimentado sin conocimiento de los tratamientos en el Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria en la Universidad Nacional.

### Análisis estadístico

Los resultados se expresan como el promedio ± error estándar. El análisis estadístico se realizó mediante una prueba ANOVA de una vía seguido por una prueba *post-hoc* de Tukey. Un valor de  $p < 0,05$  fue considerado como significancia estadística. Todos los análisis se realizaron utilizando el *software* JMP 7.

## RESULTADOS

### Efecto de EELp en las úlceras gástricas inducidas por etanol e indometacina

Los animales que recibieron agua como tratamiento en combinación con la administración oral de EtOH al 95 % mostraron un importante área de lesión gástrica (AU: 22,1 ± 3,9 mm<sup>2</sup>). La administración previa vía oral de EELp y de sucralfato (SUC) a 500 mg/kg de peso corporal previo del agente inductor provocó una reducción significativa en el área gástrica dañada al comparar contra el control (AU: 4,4 ± 0,6 mm<sup>2</sup> y 6,0 ± 3,6 mm<sup>2</sup> respectivamente) ( $p < 0,05$ , Fig. 2A). El IP de EELp fue del 80%, mientras que el de SUC fue del 73%.

Con la administración de indometacina se observaron importantes lesiones gástricas, correspondientes a un área lesionada de (15,27 ± 2,86 mm<sup>2</sup>) en el grupo control. El pretratamiento con EELp redujo significativamente estas lesiones (AU: 2,7 ± 1,2) al comparar contra el grupo control ( $p < 0,05$ , Fig. 2B). El valor de IP para EELp fue 82 %. En este caso, el SUC, utilizado como fármaco estándar, no redujo significativamente el área ulcerada al comparar contra el grupo control



negativo (IP: 46 %). De manera interesante, el extracto redujo el área dañada en mayor medida que el medicamento utilizado como control positivo.

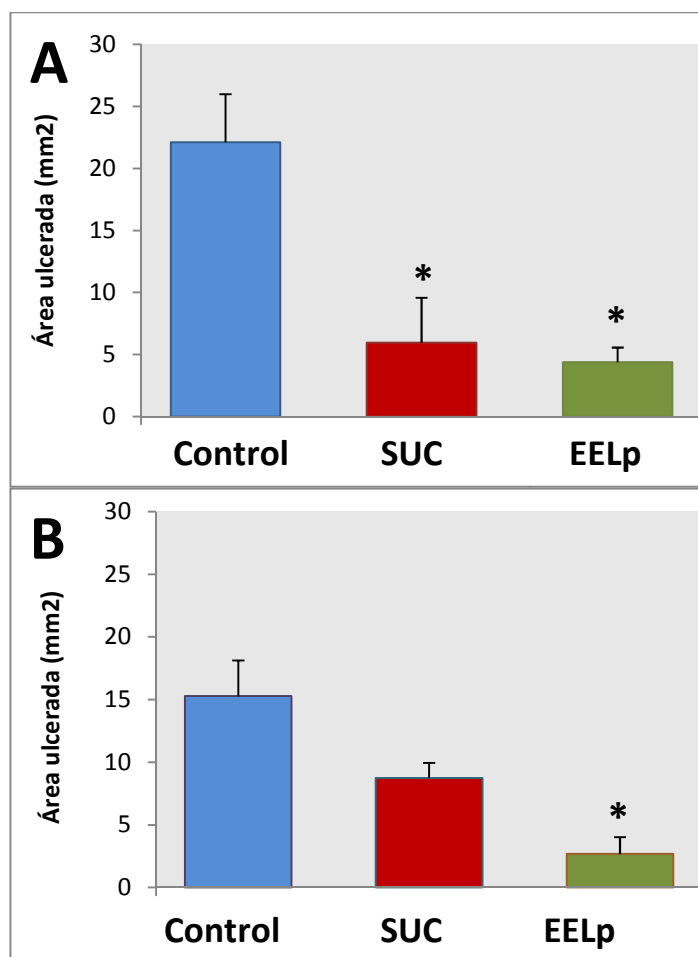


Figura No. 2.

**Efecto gastroprotector de EELp sobre las úlceras gástricas inducidas por EtOH (A) e inducidas por indometacina (B).**

Los animales recibieron vehículo (agua, 1 mL/200g), SUC (500 mg/kg) o EELp (500 mg/kg) 1h antes que el agente inductor de úlceras. El área dañada (mm<sup>2</sup>) se expresó como promedio ± SEM, n=6 animales en cada grupo experimental. \* p < 0,05.

El análisis histopatológico demostró que el EtOH provoca lesiones que inducen a congestión, erosión, necrosis y una importante infiltración leucocitaria, alterando la arquitectura normal del tejido gástrico (Fig. 3A y Fig. 3B). El pretratamiento con EELp (Fig. 3C y Fig. 3D) demostró proteger la mucosa gástrica contra el daño causado por EtOH.

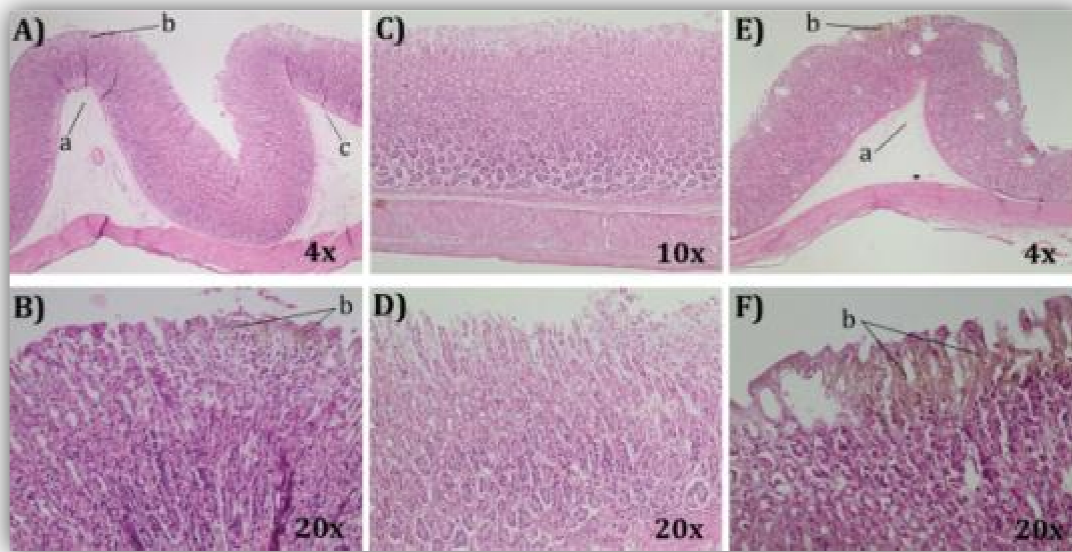
Los animales tratados con indometacina presentan daño extenso en la mucosa gástrica, caracterizado por inflamación, disrupción del epitelio, necrosis e infiltración leucocitaria (Fig. 4A y Fig. 4B). Al administrar EELp (Fig. 4C) las lesiones patológicas fueron atenuadas, presentando únicamente un ligero edema en la capa submucosa (Fig. 4D). En ambos modelos, la reducción del daño gástrico provocada por EELp fue ligeramente mayor que SUC.

**Efecto de EELp sobre parámetros fisicoquímicos y bioquímicos**

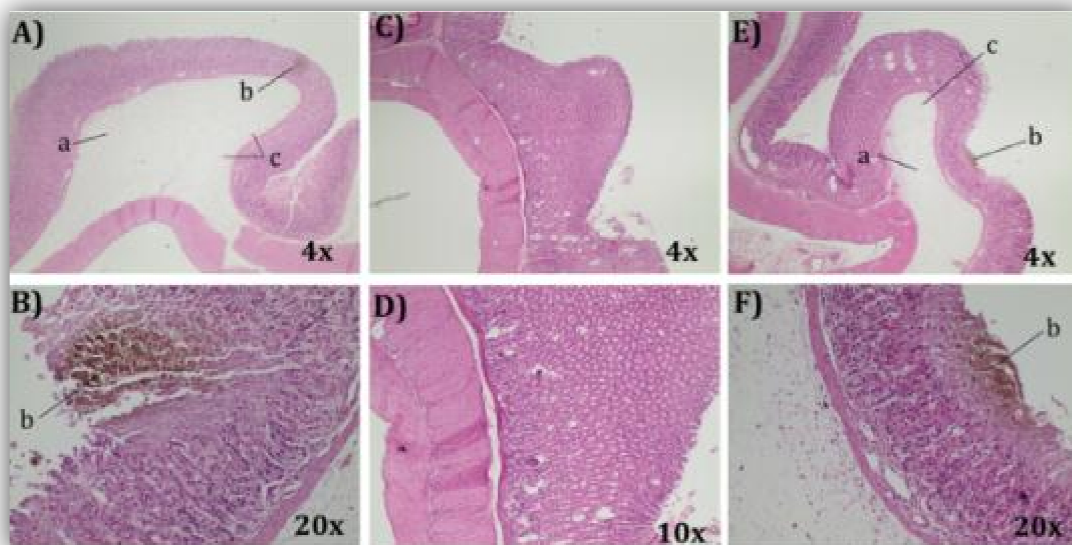
Los efectos de EELp sobre la secreción ácida, después de realizar el modelo de ligadura pilórica se muestran en la Tabla 1. Con la administración de EELp no se observó ningún efecto en el volumen y los parámetros de acidez (p > 0,05), mientras que el medicamento ranitidina (RAN) a dosis de 100 mg/kg de peso corporal mostró una disminución en la acidez total (p < 0,05) respecto al control negativo, pero no mostró cambios en el volumen de las secreciones gástricas ni en el pH.

Como se observa en la Tabla 1, el pretratamiento con EELp provocó un incremento significativo en la cantidad de moco secretado (p < 0,05) al comparar contra el grupo control. Por otra parte, no redujo significativamente la peroxidación lipídica (p < 0,05) La administración de RAN no modificó ninguno de los parámetros bioquímicos (p < 0,05).





**Figura No. 3. Hallazgos histopatológicos en estómagos extraídos bajo el modelo con EtOH.** Cortes en microscopía de luz para los tejidos gástricos extraídos de ratas bajo este modelo con los siguientes tratamientos: la imagen (A) es representativa del grupo tratado con agua, en la (B) se observa en detalle un área focal de necrosis, la (C) es representativa del grupo experimental con EELp (500 mg/kg de peso corporal) en donde se observa un tejido sano, detallando en (D) la mucosa sin alteraciones. La imagen (E) es representativa del grupo control positivo tratado con SUC, la (F) el detalle del área erosionada. En las fotografías se puede observar un edema en la submucosa (a), áreas focales de necrosis en (b) e infiltración leucocitaria en (c).



**Figura No. 4. Hallazgos histopatológicos en estómagos extraídos bajo el modelo con indometacina.** Cortes en microscopía de luz para los tejidos gástricos extraídos de ratas bajo este modelo con los siguientes tratamientos: la imagen (A) es representativa del grupo control negativo, en la (B) se observa en detalle un área focal de necrosis. (C) es la imagen representativa del grupo experimental con EELp (500 mg/kg de peso corporal), en la (D) se detalla un mínimo edema en la submucosa. La imagen (E) es representativa del grupo control positivo tratado con SUC, la (F) el detalle del área erosionada. En las fotografías se puede observar un edema en la submucosa (a), áreas focales de necrosis en (b) e infiltración leucocitaria en (c).

**Tabla No. 1.** Efecto de EELp sobre parámetros de contenido gástrico en el modelo de ligadura pilórica.

Tratamiento (mg/kg, P.O.)	Volumen de secreción gástrica (mL)	pH gástrico	Acidez total (mEq [H <sup>+</sup> ]/ L/4h)	Moco gástrico (mg/4h)	MDA (nmol/g)	MDA TBPH- inducido (nmol/g)
Control	3,05 ± 0,46	2,30 ± 0,02	89,25 ± 1,25	28,45 ± 2,59	3,06 ± 0,07	9,08 ± 0,31
RAN(100)	4,50 ± 0,81	3,51 ± 0,60	34,50 ± 9,74 *	24,38 ± 1,51	3,38 ± 0,25	9,16 ± 0,30
EELp (500)	6,63 ± 1,22	2,62 ± 0,24	85,50 ± 3,31	59,23 ± 8,13 *	3,60 ± 0,16	9,17 ± 0,24

Valores expresados como el promedio ± SEM. \* p < 0,05 comparando contra grupo control.

## DISCUSIÓN

En esta investigación se evaluó la actividad antiulcerogénica del extracto etanólico de hojas de *L. platypus*. Los resultados corresponden al primer reporte del género *Licania* evidenciando la actividad gastroprotectora en lesiones gástricas provocadas por etanol, indometacina y ligadura de píloro. Además provee evidencia que apoya el uso tradicional de esta planta para malestares estomacales.

En las úlceras inducidas por EtOH el principal mecanismo de gastrolesión es el efecto necrotizante directo sobre la mucosa gástrica, esto a partir de constricción venular y a la disolución de la barrera de moco, lo que provoca sangrados que incrementan la permeabilidad de las membranas celulares [23]. Las alteraciones recién descritas llevan a un estado de hipoxia que incrementa la generación de especies reactivas de oxígeno, causando destrucción de la barrera mucosa gástrica y en consecuencia ulceración del tejido gástrico [24]. Mishra y colaboradores [18] proponen que con el objetivo de prevenir la formación de úlceras en este modelo es necesario fortalecer la barrera de moco gástrico o generar una barrera protectora sobre el tejido, tal como

actúa el SUC. El extracto de *L. platypus* evaluado demostró una disminución del daño provocado por el EtOH, indicando que uno de los posibles mecanismos de acción de estos extractos está relacionado con el fortalecimiento en la barrera mucosa. Este mecanismo inclusive podría relacionarse con la disminución del edema y de la infiltración leucocitaria observada en el análisis histopatológico para el EELp. Autores como Ahmad y colaboradores [25] han asociado este efecto con la inhibición de citoquinas proinflamatorias y un incremento en la actividad de COX-1 y NOS, lo que plantea la posibilidad que estos mediadores bioquímicos estén asociados al eventual mecanismo de acción gastroprotector.

Por otra parte, se ha demostrado que una dosis aguda de indometacina provoca lesiones en el tejido gástrico debido a la inhibición no selectiva de las isoformas de COX y a la irritación directa sobre la mucosa, causando un incremento de células proinflamatorias [26, 27]. Es por esto que un compuesto con la capacidad de prevenir la alteración de prostaglandinas y de brindar protección a la mucosa gástrica en este modelo



ulcerogénico, tendría una importante actividad gastroprotectora [28].

El pretratamiento con el extracto estudiado protege del daño provocado en este modelo farmacológico. De manera que los resultados sugieren la posibilidad de que EELp posee un mecanismo de gastroprotección físico tal y como lo plantea el modelo inducido por EtOH, además de replantear el potencial efecto mediado por prostaglandinas. El daño microscópico es revertido por el tratamiento con EELp, mostrando una disminución en la infiltración leucocitaria y en la actividad antiinflamatoria que es debido a su importante efecto gastroprotector [29].

El efecto biológico propuesto para EELp previene el proceso de ulceración sin importar el agente administrado, lo cual se atribuye a la inducción de un balance positivo que incrementa los factores de gastroprotección. El control positivo utilizado (SUC) tiene un importante efecto gastroprotector, pero únicamente debido a la formación de una capa sobre la mucosa gástrica erosionada. Este hecho fue importante en este estudio ya que permitió establecer la hipótesis de un efecto preventivo eficiente por parte de EELp.

El modelo de ligadura pilórica facilita el análisis de más variables y permite la descripción de un mecanismo de acción más detallado. Tanto los animales tratados con RAN como con EELp mostraron un volumen de fluidos gástricos similar al control. Este comportamiento de RAN también fue reportado por García-Barrantes & Badilla [6] y Gyires et al. [30], indicando que el volumen y los parámetros de acidez pueden ser independientes uno del otro.

Zakaria y colaboradores [7] consideran que controlar la secreción ácida es fundamental para prevenir las úlceras gástricas a nivel experimental. Sin embargo, el tratamiento con EELp no fue capaz de incrementar el pH ni disminuir la acidez total hasta un valor similar a RAN. Estas observaciones en conjunto con los resultados obtenidos al evaluar el volumen gástrico permiten descartar

mecanismos de gastroprotección asociados a disminución de secreciones ácidas [31].

La barrera mucosa gástrica es la primera línea de defensa y en consecuencia, el principal factor de protección de la mucosa gástrica [15]. El grupo pretratado con el extracto de *L. platypus* mostró un incremento significativo en la producción de moco. Choudhary y colaboradores [32] asocian los resultados obtenidos con la capacidad de incrementar la secreción de prostaglandinas y la actividad de NOS, debido a que estos mediadores son los mayores estimulantes de la secreción de moco a nivel gástrico e intestinal por diferentes vías. A partir de estos resultados, es posible plantear la hipótesis de que dichos mediadores bioquímicos, eventualmente, podrían estar involucrados con el mecanismo de gastroprotección de EELp.

Las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno desempeñan un rol muy importante en la producción de úlceras gástricas [6, 17, 26]. Abdelwahab [33] ha mostrado que estos compuestos causan la liberación de citocromo C de la mitocondria, lo cual dispara una sobre regulación de Bax. Un marcador del daño oxidativo es la cuantificación del MDA liberado por medio de dos métodos, ligadura pilórica y ligadura pilórica más TBPH inducido.

El efecto antioxidante impide los procesos de hipoxia/reperfusión producto del modelo de ligadura pilórica y son reconocidos por diferentes autores como los principales inductores de peroxidación de lípidos y proteínas [4, 21, 27]. Este comportamiento se encuentra ausente en el grupo tratado con RAN, coincidiendo con otro reporte previo [32] y en el tratamiento con EELp.

## CONCLUSIONES

Con este conjunto de resultados se puede concluir que, el tratamiento con EELp tiene un efecto gastroprotector en modelos animales de ulceración con EtOH e indometacina y el modelo de ligadura pilórica asociado con la capacidad inducir

la secreción de moco en el tejido gástrico, brindando un aumento en las defensas físicas sobre este tejido.

## AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica bajo el proyecto N° 908-A5-079. Los autores extienden un agradecimiento al personal del Laboratorio de Ensayos Biológicos por la asistencia técnica, Ph.D. Pedro García y Lic. Luis Poveda Álvarez por facilitar el material vegetal, Ph. D. Gabriela Azofeifa y Ph. D. Silvia Quesada por el asesoramiento en los ensayos de peroxidación lipídica.

## REFERENCIAS

- Al-Sayed E, El-Naga R. Protective role of ellagitannins from *Eucalyptus citriodora* against ethanol-induced gastric ulcer in rats: Impact on oxidative stress, inflammation and calcitonin-gene related peptide. *Phytomedicine*. 2015; 22(1): 5–15.
- Wallace J. Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: Why doesn't the stomach digest itself? *Physiol Rev*. 2008; 88: 1547-1565.
- Zapata Colindres JC, Zepeda Gómez S, Montaña Loda A, Vázquez Ballesteros E, Villalobos J, Valdovinos Andraca F. The association of *Helicobacter pylori* infection and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in peptic ulcer disease. *Can J Gastroenterol*. 2006; 20 (4): 277-280.
- Chen H, Liao H, Liu Y, Zheng Y, Wu, X, Su Z, et al. Protective effects of pogostone from *Pogostemonis herba* against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Fitoterapia*. 2015; 100: 110–117.
- Morsy M, Heeba G, Abdelwahab S, Rofaeil R. Protective effects of nebevivolol against cold restraint stress-induced gastric ulcer in rats: Role of NO, HO-1, and COX-1,2. *Nitric Oxide*. 2012; 27: 117-122.
- García Barrantes P, Badilla B. Anti-ulcerogenic properties of *Quassia amara* L. (Simaroubaceae) standardized extract in rodent models. *J Ethnopharmacol*. 2011; 134: 904-910.
- Zakaria ZA, Balan T, Suppaiah V, Ahmad S, Jamaludin F. Mechanism(s) of action involved in the gastroprotective activity of *Muntingia calabura*. *J Ethnopharmacol*. 2014; 151: 1184-1193.
- Júnior FEB, de Oliveira DR, Boligon AA, Athayde ML, Kamdem JP, Macedo GE, et al. Protective effects of *Croton campestris* A.St-Hill in different ulcer models in rodents: Evidence for the involvement of nitric oxide and prostaglandins. *J Ethnopharmacol*. 2014; 153: 469-477.
- Lau JY, Sung J, Hill C, Henderson C, Howden CW, Metz DC. Systematic review of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: incidence, recurrence, risk factors and mortality. *Digestion*. 2011; 84: 102–113.
- Rocha GF, do Amaral Costa IM, Rodrigues da Silva JB, Farias da Nóbrega R, Galvao Rodrigues FF, Martins da Costa JG, Goncalves Wanderley A. Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Hyptis martiusii* Benth. (Lamiaceae). *J Ethnopharmacol*. 2011; 137: 886 – 892.
- Chen H, Liao H, Liu Y, Zheng Y, Wu X, Su Z, Zhang X, Lai X, Lin Z, Su Z. Protective effects of progostone from *Pogostemonis Herba* against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Fitoterapia*. 2015; 100: 110 – 117.
- Borelli F, Izzo AA. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytother Res*. 2000; 14: 581–591.
- García-González M, Morales C. Análisis de la literatura sobre plantas medicinales en Costa Rica (1930-2001). *LANKESTARIANA*. 2005; 5 (1), 3-40.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional.2014-2023. <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>. Accesada 23 de setiembre del 2016.
- Rozza A, Hiruma Lima C, Takahira R, Padovani C, Pellizzon C. Effect of menthol in experimentally induced ulcers: Pathways of gastroprotection. *Chem-Biol Interact*. 2013; 206: 272-278.
- Braca A, Sortino C, Politi M, Morelli I, Mendez J. Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *J Ethnopharmacol*. 2002; 79: 379-381.
- Condit R, Pérez R, Daguerre N. *Trees of Panama and Costa Rica*. Princeton University Press, Princeton. 1<sup>st</sup> edition 2011, pp 130-131.



18. Mishra V, Agrawal M, Onasanwo S, Madhur G, Rastogi P, Pandey HP, et al. Anti-secretory and cyto-protective effects of chebulinic acid isolated from the fruits of *Terminalia chebula* on gastric ulcers. *Phytomedicine*. 2013; 20 (6): 506-511.
19. Süleyman H, Altýnkaynak K, Göçer F, Mara A, Akçay F, Onuk D et al. The effect of nimesulide on the indomethacin and ethanol induced gastric ulcer in rats. *Pol J Pharmacol*. 2002; 54: 255-259.
20. Shay H, Komarov SA, Fels SS, Meranze D, Gruenstein M, Sipler H. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Gastroenterology*. 1945; 5: 43-61.
21. Li WF, Hao DJ, Fan T, Huang HM, Yao H, Niu XF. Protective effect of chelerythrine against ethanol-induced gastric ulcer in mice. *Chem-Biol Interact*. 2014; 208: 18-27.
22. Azofeifa G, Quesada S, Pérez AM. Effect of the microfiltration process on antioxidant activity and lipid peroxidation protection capacity of blackberry juice. *Rev Bras Farmacogn*. 2011; 21 (5): 829-834.
23. Ineu RP, Oliveira CS, Oliveira VA, Moraes-Silva L, Almeida da Luz SC, Pereira ME. Antioxidant effect of zinc chloride against ethanol-induced gastrointestinal lesions in rats. *Food Chem Toxicol*. 2013; 58: 522-529.
24. Choi HS, Lim JY, Chun HJ, Lee M, Kim ES, Keum B, et al. The effect of polaprezinc on gastric mucosal protection in rats with ethanol-induced gastric mucosal damage: Comparison study with rebamipide. *Life Sciences*. 2013; 93: 69-77.
25. Ahmad A, Gupta G, Afzal M, Kazmi I, Anwar F. Antiulcer and antioxidant activities of a new steroid from *Morus alba*. *Life Sciences*. 2013; 92: 202-210.
26. Chakraborty S, Stalin S, Das N, Choudhury ST, Ghosh S, Swarnakar S. The use of nano-quercetin to arrest mitochondrial damage and MMP-9 upregulation during prevention of gastric inflammation induced by ethanol in rat. *Biomaterials*. 2012; 33: 2991-3001.
27. Da Silva L, Allemand A, Mendes D, dos Santos A, André E, de Souza L, et al. Ethanolic extract of roots from *Arctium lappa* L. accelerates the healing of acetic acid-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the antioxidant system. *Food Chem Toxicol*. 2013; 51: 179-187.
28. Volod'ko AV, Davydova VN, Chusovitin E, Sorokina IV, Dolgikh MP, Tolstikova TG, et al. Soluble chitosan-carrageenan polyelectrolyte complexes and their gastroprotective activity. *Carbohydrate Polymers*. 2014; 101: 1087-1093.
29. Nelson KK, Melende JA. Mitochondrial redox control of matrix metalloproteinases. *Free Radic Biol Med*. 2004; 37: 768-784.
30. Gyires K, Rónai A, Zádori Z, Tóth V, Németh J, Szekeres M, et al. Angiotensin II-induced activation of central AT1 receptors exerts endocannabinoid-mediated gastroprotective effect in rats. *Molec Cel Endocrinol*. 2014; 382: 971-978.
31. Ishizuka N, Imazeki N, Senoo A, Sakurai J, Sonoda M, Kanazawa M, et al. Cell proliferation in ventromedial hypothalamic lesioned rats inhibits acute gastric mucosal lesions. *Obes Res Clin Pract*. 2012; 6: e233-e240.
32. Choudhary M, Bodakhe S, Gupta S. Assessment of the antiulcer potential of *Moringa oleifera* root-bark extract in rats. *J Acupunct Meridian Stud*. 2013; 6 (4): 214-220.
33. Abdelwahab SI. Protective mechanism of gallic acid and its novel derivative against ethanol-induced gastric ulcerogenesis: Involvement of immunomodulation markers, Hsp70 and Bcl-2-associated X protein. *Int Immunopharmacol*. 2013; 16: 296-305.
34. Zaman RU, Akhtar MS, Khan MS. Anti-ulcer activity of NS-EA 51: A fraction of *Nigella sativa* seed, in histamine plus pylorus-ligated and hypothermia plus restrain stressed rat models. *J Pharm Research*. 2013; 6: 16-20.

## CORRESPONDENCIA

Orozco Aguilar, Josué

Correo: josue.orozco@ucr.ac.cr

