



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LANÚS

DEPARTAMENTO DE HUMANIDADES Y ARTES

TESIS DE MAESTRÍA EN METODOLOGÍA DE LA  
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Título: Estudio sobre el uso medicinal de plantas nativas

Subtítulo: Uso popular como hepatoprotector y antiulceroso  
gástrico de las hojas de *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.)  
Reissek (Santalaceae)

Tesista: Esp. Silvia Raquel Duarte

Director de tesis: Dra. Graciela Haydée Wendel

Co-director de tesis: Dr. Mauricio Roberto Teves

San Luis, 2023

*Este agradecimiento va dirigido a:*

- *Dios, que me ha dado la fortaleza espiritual y física para continuar en este camino.*
- *...mis directores Graciela Wendel y Mauricio Teves que, siendo grandes profesionales, aunque mejores personas, dedicaron tiempo y esfuerzo para acompañarme en esta ardua tarea.*
- *... mis profesores de la Maestría que me contagiaron la pasión por la Investigación Científica.*
- *... mi familia querida que estuvo y siempre está...*

**7Índice general**

Índice general .....	I
Índice de Tablas .....	IV
Índice de Figuras .....	VI
Abreviaturas .....	VII
<b>Introducción</b> .....	1
<b>Capítulo 1</b> .....	8
Objetivos .....	13
Objetivo General .....	13
Objetivos Específicos .....	13
Marco Teórico .....	14
Estado de la Cuestión .....	19
<b>Capítulo 2</b> .....	21
Fundamentos Metodológicos y Epistemológicos .....	22
<b>Capítulo 3</b> .....	29
Taxonomía del Material Vegetal <i>Jodina rhombifolia</i> .....	30
Descripción Botánica .....	33
Nombres Vulgares .....	35
Usos en la Medicina Tradicional de Argentina .....	36
Usos no Medicinales .....	45
<b>Capítulo 4</b> .....	46
Evaluación de la Actividad Citoprotectora Gástrica .....	47
Bases Fisiológicas del Tracto Digestivo .....	47
Factores agresivos y protectores de la Mucosa Gástrica y Duodenal .....	48

## ESTUDIO SOBRE EL USO MEDICINAL DE PLANTAS NATIVAS

Citoprotección .....	50
Factores Funcionales .....	52
Factores Humorales .....	53
Factores Neuronales .....	54
Modelos Experimentales de Inducción de Úlceras: Anatomía del Estómago de Rata y Ratón .....	55
Método de cuantificación de úlceras .....	56
Posibilidades de intervención farmacológica .....	57
Terapéutica de la úlcera gástrica .....	57
Tratamiento alternativo: uso de plantas medicinales .....	59
Fase Experimental .....	60
Primera contrastación empírica: Determinación de la actividad citoprotectora gástrica de <i>Jodina rhombifolia</i> utilizando diferentes concentraciones .....	60
Segunda contrastación empírica: Lesiones gástricas inducidas por otros agentes necrosantes NaOH 0,2 N (hidróxido de sodio), HCl 0,6 N (ácido clorhídrico), y NaCl 25% (Cloruro de sodio) .....	63
Tercera contrastación empírica: Determinación de la actividad citoprotectora gastroduodenal en rata .....	64
Cuarta contrastación empírica: Determinación del mecanismo de acción en la actividad gastroprotectora mediante la participación de las prostaglandinas ... ..	66
Quinta contrastación empírica: Determinación del mecanismo de acción en la actividad gastroprotectora mediante la participación de los grupos sulfhidrilos .....	67
Sexta contrastación empírica: Determinación del mecanismo de acción en la actividad gastroprotectora mediante la participación del óxido nítrico .....	69
Resultados .....	70
Resultados Primer contrastación empírica .....	71
Resultados Segunda contrastación empírica .....	72

## ESTUDIO SOBRE EL USO MEDICINAL DE PLANTAS NATIVAS

Resultados Tercera contrastación empírica .....	75
Resultados Cuarta contrastación empírica .....	76
Resultados Quinta contrastación empírica .....	78
Resultados Sexta contrastación empírica .....	80
Discusión y Conclusiones .....	81
<b>Capítulo 5</b> .....	87
Evaluación de la Actividad Hepatoprotectora .....	88
Bases Fisiológicas del Sistema Hepático .....	88
Fase experimental .....	93
Contrastación empírica para la Determinación del efecto Hepatoprotector de <i>J. rhombifolia</i> .....	93
Resultados .....	98
Discusión, conclusiones de la Actividad Hepatoprotectora y conclusión epistemológica. ....	101
Referencias-bibliográficas .....	106
<b>Anexos</b> .....	123
Protocolo para la realización de Experiencias con Animales en la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia .....	124
Aprobación de protocolos de experimentación otorgado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA) Res 99/21 y Res 100/21 .....	127
Autorización para realizar investigación sobre la especie vegetal <i>Jodina rhombifolia</i> .....	128
Resultados parciales presentados en eventos científicos y mención especial...	136

## Introducción

Cuando se habla de inductivismo en sentido amplio o confirmacionismo, se asocia inmediatamente a Hempel, donde las hipótesis aparecen como punto de partida de la investigación científica y no como resultado de ella. Es allí, que, desde la perspectiva metodológica, en el contexto justificacionista, las hipótesis deben ser sometidas a contrastación, para refutarlas o confirmarlas. (Mombrú Ruggiero y Piñeiro, 2017). En este marco confirmacionista, se llevó a cabo el trabajo de investigación de modo original e inédito y acerca de una especie nativa a la que el conocimiento popular le otorga diversas propiedades, como hepatoprotector y antiulceroso gástrico entre otras, y que son atribuidos a la especie medicinal y regional conocida vulgarmente como “peje” o “sombra de toro” siendo su denominación taxonómica: *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae), de estatus nativo en Argentina y autóctona de Provincia de Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Jujuy, La Pampa, Mendoza, San Juan, San Luis, Río Negro, Salta, Santiago del Estero, Santa Fe y Tucumán. Pudiendo encontrarla también en otros países de América del Sur, como Brasil, Uruguay y Paraguay. (Zuloaga *et al.*, 2008).

De acuerdo al tipo de investigación se la clasificó como descriptiva, y explicativa. La descriptiva estuvo dada en los diversos supuestos en torno al objeto de estudio, la descripción de los diferentes procedimientos que debieron realizarse en laboratorio, que resultaron en regularidades y como respondieron a las implicaciones lógicas. Como explicativa, se presentó hipótesis, para la cual se diseñaron los procedimientos y técnicas en animales de experimentación. (Mombrú Ruggiero y Margetic, 2013) Para ello fue necesario la utilización de procedimientos, instrumentos y experimentos que permitió verificar o refutar la hipótesis planteada acerca de las propiedades medicinales de esta especie vegetal.

Desde el punto de vista de las escalas del proceso de investigación, se incluye el trabajo dentro de la escala macro, en la disciplina Farmacológica y, a nivel de escala meso, corresponde a la Etnofarmacología, centrándose fundamentalmente en la evaluación de la eficacia de drogas tradicionales, integrando una línea de

investigación, originario del Proyecto 8504 de Ciencia y Técnica de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de San Luis (UNSL), con una vasta trayectoria. En el marco de dicha línea se vienen desarrollando actividades tendientes a indagar sobre la actividad, mecanismo de acción de diferentes productos naturales de origen vegetal, en animales de experimentación. (Ynoub, 2015). En relación al proceso de investigación en su escala micro, se pudo considerar tres grandes fases: Fase 1: fase sincrética o de ideación del objeto; Fase 2: fase analítica o de disección del objeto y Fase 3: fase sintética o de reintegración del objeto. De acuerdo a lo expresado por Samaja (2003) y que parafrasea a Peirce (1988), en esta primera fase, se conjugaron varios métodos: de la tenacidad, de la autoridad, de la reflexión y el método de la eficacia. El método de la tenacidad nace de manera intuitiva, de nuestras corazonadas que surge inmediatamente cuando estamos comprometidos con un tema en especial como es el uso popular de ciertas especies para uso medicinal, el de las tradiciones que se obtiene por medio del método de la autoridad, comprendido por aquellos sujetos que son reconocidos por sus antecedentes y conocimientos, promulgándose como modelos al interior de una comunidad disciplinaria. Por su parte, a través del método de la eficacia o de la ciencia se reconoce el conocimiento, a través de una base empírica. Recién en este método se podría señalar estar en terreno netamente científico. (Ynoub, 2015).

Con respecto a la fase 1, y como se mencionó anteriormente, se enmarca en una línea de investigación que comenzó en sus orígenes estudiando la química y aplicaciones de los productos naturales de las plantas, focalizando en los principios activos antiulcerosos gástricos, en el año 1985, bajo la dirección del Dr. Oscar Giordano y donde la misma práctica investigativa y profesional generaron nuevos interrogantes, hacia la búsqueda de nuevos principios activos y sus mecanismos de acción. A través de experiencias ya configuradas y delineadas se organizaron los antecedentes y marcos teóricos validados, fue necesario previamente, relacionarse por un lado con la teoría, y por el otro con el quehacer de los investigadores que realizan una rutina diaria en el laboratorio, involucrarse con sus ideales y que como lo resume Ynoub (2015) es menester, además de conocer, entender la lógica subyacente.

La búsqueda de trabajos científicos similares, permitió conocer e involucrarse en experiencias realizados con otra especies herbarias, en trabajos originarios, como el método descrito por Robert *et al.* (1979) para la determinación de actividad citoprotectora gástrica, el método descrito por Melchiorri *et al.* (1997) en experimentación en modelos in vivo con animales, y el método de Sibila *et al.* 2007, para determinar la lesión gástrica en mm<sup>2</sup>, el de Gilani *et al.* (1992) relacionado la hepatotoxicidad inducida por paracetamol.

El estudio de las plantas medicinales ha favorecido un gran desarrollo en la industria farmacéutica, representa cada vez más importancia para la salud pública, no solo por la generación de nuevos principios activos, sino también por la instalación de bases científicas que acreditan los usos que se le atribuyen a estas especies vegetales en la medicina popular. En este marco se presenta la hipótesis “La especie herbaria *J. rhombifolia* conocida popularmente como “peje” posee propiedades medicinales”. A partir de su confirmación, se podría avalar el conocimiento y su uso popular al atribuir una nueva actividad farmacológica permitiendo ampliar el conocimiento sobre el uso de plantas terapéuticas. Así, el objetivo principal de este proyecto es confirmar la acción protectora hepática y citoprotectora gástrica del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *J. rhombifolia*. (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae), con determinación de su posible mecanismo de acción como agente citoprotector gástrico. La interfaz entre la fase 1 y fase 2 estuvo dada por las hipótesis de trabajo, “*J. rhombifolia* ejerce actividad farmacológica como protector gástrico-duodenal frente al efecto ulcerogénico de etanol”; “Los mecanismos de acción que participan en su efecto protector gástrico se debe a la participación de prostaglandinas, óxido nítrico y/o grupos sulfhidrilos” y “a la especie *J. rhombifolia* se le atribuye en el ámbito comunitario actividad farmacológica como protector hepático”. Para la fase 2, o fase analítica, de las conceptualizaciones a operacionalizaciones, se adoptaron estrategias empíricas para contrastar las hipótesis sustantivas, para ello, requirió remitirse al Herbario de la UNSL (institución estatal de investigación, docencia, servicios y extensión dedicada al estudio de la flora y vegetación regionales) y solicitar la identificación especie herbaria, la cual fue constada por expertos, la planta medicinal fue inicialmente recolectada en la Provincia de San Luis, localidad de Fraga, establecimiento “Los Chañares”. Se preparó infusión al 10% siguiendo la metodología



descrita en la VI Ed Farmacopea Nacional Argentina y se liofilizó para su conservación. Por otra parte, fue necesario coordinar con el Bioterio de la UNSL, (entidad que tiene por objetivo regular las actividades relacionadas a la producción, cuidado, y uso de los animales, necesarios para la investigación científica experimental) debiendo contar con las autorizaciones del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA) bajo protocolos aprobados N° F-357/21, F-358/21, F-359/21 y F-360/21. Se utilizaron ratas Wistar (180-200 g,  $n=6-8$  por lote) en ayunas 24 horas previas a los tratamientos. La fase empírica se dividió en dos etapas, el de protección gástrica y el de protección hepática. Los procedimientos se detallan minuciosamente en el capítulo de metodología, aun así, sintéticamente, en el laboratorio, el extracto liofilizado se pasó a solución de *J. rhombifolia* al disolver en agua destilada justo antes de la administración oral. En el de protección gástrica se procedió a un pretratamiento oral con el liofilizado en diferentes dosis (250, 500 y 1000 mg/kg) el cual produjo una disminución significativa en la intensidad del daño de la mucosa gástrica inducido por etanol, dependiente de la dosis. Se extrajeron los estómagos y se inspeccionaron en busca de lesiones en la porción glandular. Un escáner examinó las muestras y la imagen escaneada se analizó mediante un programa desarrollado por el Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos de América Image J (NIH). Se evaluó el papel de las prostaglandinas (PG), los grupos sulfhidrilos (SH) y el óxido nítrico (NO). En el ensayo de protección hepática, el liofilizado de la infusión se volvió a disolver en agua y se administraron en dosis de 500 y 1000 mg/kg y la Silimarina (200 mg/kg) por vía oral a los grupos respectivos una vez al día durante tres días. Al tercer día se suministró paracetamol (640 mg/kg) a todos los grupos excepto al control, una hora después del respectivo tratamiento. Después de 24 horas del paracetamol, se recolectó y se analizó el suero para determinar los parámetros bioquímicos. En la tercera fase sintética o de reintegración del objeto, se obtuvo por resultado que, el pretratamiento oral con *J. rhombifolia* (250, 500 y 1000 mg/kg) produjo una disminución significativa en la intensidad del daño de la mucosa gástrica inducido por etanol ( $p<0,001$  vs. etanol). Además, la solución, evitó el daño inducido por otros agentes ulcerogénicos: ClH 0.6 N, NaCl 25% y NaOH 0.2 N ( $p<0.001$  vs. controles). Por otra parte, se interpretó que la actividad hepatoprotectora de *J. rhombifolia* en dosis de (1000 mg/kg) fue comparable con la Silimarina estándar.

Conforme a la matriz de datos, el nivel de anclaje en la matriz de estuvo representado por las propiedades terapéuticas de las hojas de la *J. rhombifolia*, la matriz supra unitaria, por la especie herbaria de uso medicinal, no medicinal y la matriz subunitaria por los mecanismos de acción que actúan en la protección gástrica y la actividad hepatoprotectora frente a una sustancia tóxica como el paracetamol en animales de experimentación. (Samaja, 2004) En la actualidad existe poca o incompleta evidencia científica acerca de la acción farmacológica de muchas especies vegetales que son utilizadas en la medicina popular, posiblemente por el arraigo a ciertas creencias que por el solo hecho de ser productos naturales resultan en ocasiones inocuos para el ser humano. (Duarte, 2021)

De acuerdo a lo formulado por Teves *et al.* (2018), la experimentación farmacológica preclínica en animales de laboratorio con productos obtenidos por extracción acuosa de plantas medicinales enteras o de sus partes y cuyo uso en la medicina popular es fidedigno, resulta, en primera línea, de gran importancia para la validación del uso folklórico, dando bases científicas que lo acreditan, permitiendo un acercamiento a la forma de utilización por los propios utilitarios. (Teves *et al.*, 2018). En ello radica el valor que por tradición cultural se le atribuye a esta especie y que forman parte en muchas comunidades de un gran valor arraigado a la salud, desde tiempos ancestrales y que se pretende confirmar en el actual trabajo. Así, el tratamiento de la protección gástrica y hepática pueden beneficiarse con la introducción de terapias nuevas, basadas en compuestos naturales. Se ha de tener en cuenta que recientemente se le ha puesto mucha atención hacia los extractos y compuestos biológicamente activos, los cuales son aislados de plantas de uso popular. Relacionado a ello, el uso de plantas medicinales juega un papel vital en las coberturas básicas de los sistemas de salud de los países en vías de desarrollo, pudiendo estas plantas ofrecer una nueva fuente de productos antibacteriales, antifúngicos o antivirales, con una actividad significativa contra los microorganismos (Pereira Leite *et al.*, 2006)

La presente tesis de maestría comprende 5 capítulos y un anexo; en el capítulo 1 se expone el tema de tesis, el problema de investigación, justificación, objetivos, hipótesis, marco teórico y estado de la cuestión. El capítulo 2 refiere a aspectos metodológicos y epistemológicos: las diferentes fases del proceso de investigación

científica, hipótesis, matriz de datos, unidad de análisis, variables e indicadores y la postura epistémica en la que se apoya el presente trabajo. El capítulo 3 consta del estudio taxonómico del material vegetal, *J. rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae), su clasificación, descripción botánica, usos medicinales y no medicinales. A partir del capítulo 4 se describen las determinaciones y contrastaciones realizadas, tendientes a corroborar la actividad citoprotectora gástrica de *J. rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae). El capítulo 5 se centra en la confirmación de la actividad hepatoprotectora de *J. rhombifolia*, para ello también fue necesario realizar diferentes contrastaciones empíricas. Se ha de destacar que el capítulo correspondiente a la metodología, así también como los capítulos 4 y 5 que incluyen la fase empírica se ha incorporado en cada uno introducción, desarrollo y resultados y/o conclusiones. En el anexo se incorpora las resoluciones de aprobación de los protocolos presentados al Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales (CICUA), que corresponde a cuestiones éticas y normas de uso de animales de experimentación, permisos para el estudio de la especie herbaria y resultados parciales presentados en eventos científicos.

# Capítulo 1

La medicina tradicional representa un papel importante en la asistencia sanitaria, principalmente en lo que respecta a la atención primaria de la salud. La utilización de las plantas medicinales por el hombre constituye uno de los procedimientos que con mayor frecuencia es aplicada en el ejercicio de la medicina tradicional. La Organización Mundial de la Salud (OMS), como organismo rector de la salud a nivel mundial, promulgó el conocimiento científico mediante la promoción y desarrollo de la instrucción e investigación en medicina tradicional.

La OMS define a las plantas medicinales como materias vegetales brutas en la que incluye hojas, flores, frutos, semillas, tallos, madera, corteza, raíces, rizomas u otras partes vegetales, que pueden estar enteras, fragmentadas o en polvo. (OMS, 2002)

En la Universidad de San Luis, en el marco del Proyecto de Ciencia y Técnica 2-4218 titulado “Evaluación farmacológica y toxicológica de productos naturales” de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, se ha venido indagando sobre el estudio de especies vegetales medicinales, con énfasis en el análisis de efectos farmacológicos y toxicológicos en animales de laboratorio (principalmente ratas y ratones), bajo exhaustivos protocolos de experimentación.

La especie medicinal en estudio se denomina *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae), conocida vulgarmente como “peje” o “sombra de toro” (Alonso y Desmarchelier, 2015; De la Peña y Pensiero, 2004), entre varias otras denominaciones vulgares; es una especie nativa de América del Sur, que crece en Uruguay, Paraguay, sur de Brasil y en nuestro país se extiende hasta la provincia de Río Negro; siendo de amplia utilización en nuestra medicina popular (Alonso y Desmarchelier, 2015; Carosio *et al.*, 2008; Chifa y Ricciardi, 2001; Furlan *et al.*, 2011; Goleniowski *et al.*, 2006; Hieronymus, 1882; Hurrell *et al.*, 2011; Lahitte *et al.*, 1998; 1999; Martínez, 2005; Núñez y Cantero, 2000; Roig, 2001; Toursarkissian, 1980). Es un árbol o arbusto hemiparásito de estatus nativo, que mide de 2 a 5 metros de altura, con hojas simples de forma romboidal, color verde oscuro y sendas espinas en sus vértices; sus flores son pequeñas, de color amarillento y presenta un fruto carnoso, el cual es referenciado como comestible (Alonso y Desmarchelier, 2015; Ratera y Ratera, 1980). La utilización de plantas nativas como uso medicinal es tan antigua como la aparición de la especie humana y han ocupado un lugar destacado como patrimonio

cultural por generaciones, siendo el principal recurso terapéutico de muchas sociedades.

Carl Hempel y Rudolf Carnap integraron el Círculo de Viena, formaron parte de un movimiento filosófico epistemológico que se conoció como neopositivismo o empirismo lógico, pretendían dejar de lado la génesis del saber, para focalizar en la justificación de la hipótesis, desde el control empírico de los enunciados observacionales y la validez lógica que vincula la hipótesis fundamental con los enunciados observacionales y al que llamó inductivismo en sentido amplio o confirmacionismo. También, Carnap coincide con Reinchenbach en la dificultad que presenta la lógica inductiva, al igual que la deductiva, la cual no garantiza una conclusión verdadera, siendo necesario buscar un método que permita obtener un alto grado de probabilidad de que la hipótesis sea probablemente verdadera y para llegar a ello es menester la reiteración de las consecuencias observacionales (Ambrosini y Beraldi, 2018)

El actual trabajo pretende confirmar o refutar las hipótesis acerca del uso medicinal de la *J. rhombifolia*, a la que se le atribuye propiedad hepatoprotectora (Alonso y Desmarchelier, 2015; Chifa y Ricciardi, 2004; Hurrell *et al.*, 2011; Karlin *et al.*, 2017; Lahitte *et al.*, 1998; Martínez, 2011; Raad, 2015) y propiedad antiulcerosa gástrica (Almeida Schiavon, 2015; Fernandes, 2014; Karlin *et al.*, 2017; Sharry *et al.*, 2011), con determinación de su posible mecanismo de acción como agente citoprotector gástrico. Las plantas medicinales han sido utilizadas desde tiempos ancestrales, su accesibilidad y disponibilidad económica han permitido ser una importante base de la medicina tradicional.

De acuerdo a lo planteado por Mombrú Ruggiero (2019), acerca del confirmacionismo hempeliano, el método hipotético deductivo como método científico no comienza con la observación, sino con los problemas, estos problemas se conforman en hipótesis, a su vez estas hipótesis que son difícilmente contrastadas por su alto nivel de abstracción deben encontrar hipótesis derivadas que contengan una implicación contrastadora, esto permite pasar del plano teórico al empírico y confirmar la hipótesis. Sin embargo, no se desconoce que se podría incurrir en la *falacia de afirmación del consecuente* (FAC) que es una forma inválida de razonamiento:  $p \supset q$   
 $.q/ \therefore p$ , es decir que partiendo de premisas verdaderas, la conclusión puede ser

verdadera o falsa, por otro lado, en el método hipotético deductivo desde su formulación de hipótesis hasta su contrastación empírica, hay una serie de pasos, y, como advierte Mombrú Ruggiero (2019), en el énfasis del control empírico en el experimento propiamente dicho, como testeo de la hipótesis, las premisas no pueden ser contrastadas directamente, sino que, la opción es realizarlo en forma indirecta, se puede caer en error, en conclusiones erróneas. En virtud de ello, Hempel (2003) considera que el someter la hipótesis a una serie de contrastaciones, que, con resultados favorables, posiciona al investigador en una situación un poco más satisfactoria que al no haberla contrastado.

En la actualidad existe poca o incompleta evidencia científica acerca de la acción farmacológica de muchas especies vegetales que son utilizadas en la medicina popular, posiblemente por el arraigo a ciertas creencias que por el solo hecho de ser productos naturales resultan inocuos para el ser humano, y como lo marca el hipotético deductivismo, se plantearon problemas, se propusieron hipótesis principal e hipótesis operacionales que permitieron las consecuencias observacionales, mediante recursos deductivos, el uso de animales de experimentación y la analogía fisiológica con la especie humana, se realizaron diferentes implicaciones contrastadoras, que permitieron la puesta a prueba de las hipótesis y ello generó resultados. (Mombrú Ruggiero, 2019).

De acuerdo a lo planteado en el párrafo anterior, surgieron las siguientes preguntas problemas:

¿La especie *J. rhombifolia* posee propiedades como citoprotector gástrico- duodenal y hepatoprotector? ¿Tales actividades pueden demostrarse y confirmarse científicamente mediante la experimentación farmacológica en animales de laboratorio? ¿Cuál/es es/son el/los mecanismo/s de acción que participa/n en su efecto protector gástrico?

La hipótesis que se propusieron con diversos niveles:

- ❖ Hipótesis principal: La especie herbaria “*J. rhombifolia*” conocida popularmente como “peje” posee propiedades medicinales como protector gastroduodenal y hepático.
- ❖ Hipótesis de trabajo:

- H 1: *J. rhombifolia* ejerce actividad farmacológica como protector gástrico-duodenal frente al efecto ulcerogénico de etanol.
- H 2: Los mecanismos de acción que participan en su efecto protector gástrico se debe a la participación de prostaglandinas, óxido nítrico y/o grupos sulfhidrilos.
- H 3: La infusión de *J. rhombifolia* posee propiedad hepatoprotector frente a dosis hepato-tóxicas de paracetamol.

Si bien el uso de plantas o sustancias vegetales, con fines medicinales es una práctica milenaria, en las última décadas hay una vuelta a su redescubrimiento, numerosas investigaciones avalan sus propiedades, sin embargo, desde la lógica confirmacionista se deben reiterar los experimentos y si se logran un gran número de consecuencias observacionales, la hipótesis planteada puede llegar a ser confirmada con algún grado de probabilidad. (Ambrosini y Beraldi, 2018)

La fitomedicina que comprende el uso de plantas para uso medicinal, es señalada cada vez más por su importancia en el aporte socioeconómico de la salud, y además resulta de interés para iniciar la búsqueda de nuevos principios activos que serán útiles para la medicina alopática.

En tal sentido, la medicina tradicional, presenta atributos terapéuticos que en ciertas culturas son de una gran relevancia, superando ampliamente a la medicina convencional.

Por su parte la OMS señala a los medicamentos herbarios como el conjunto de:

[...]hierbas, material herbario, preparaciones herbarias y productos herbarios acabados, que contienen como principios activos partes de plantas, u otros materiales vegetales, o combinaciones de esos elementos. (OMS, Medicina Tradicional).

Por otra parte, es necesario que los profesionales de la salud, así como los usuarios deban conocer la finalidad, los riesgos y beneficios del uso de plantas medicinales, ya que favorece no solo a la salud humana, sino a un acercamiento del saber popular al saber científico (Heisler *et al.*, 2015). El estudio de la especie vegetal



*J. rhombifolia*, pretende que este estudio genere mayor conocimiento de su uso como medicamento herbario como protector gástrico y hepático.

El objeto de investigación son las propiedades medicinales de la especie vegetal *J. rhombifolia* conocida con los nombres populares de “peje” o “sombra de toro”. Para ello fue necesario la contrastación empírica que permitió validar la respuesta como protector gástrico y el/los mecanismos de acción como citoprotector gástrico a través de inoculación de la especie herbaria liofilizada por vía oral en modelos experimentales *in vivo* (ratas Wistar de ambos sexos) con lesiones gástricas inducidas con etanol absoluto y otros agentes necrosantes. Se valoró, además, la actividad hepatoprotectora con diferentes dosis del extracto acuoso liofilizado de *J. rhombifolia* inducidas previamente con paracetamol en ratas Wistar.

## **Objetivos**

### **Objetivo General**

Validar la acción protectora hepática y citoprotectora gástrica del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *J. rhombifolia*. (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae), con determinación de su posible mecanismo de acción como agente citoprotector gástrico.

### **Objetivos Específicos**

- a) Confirmar la capacidad citoprotectora de diferentes dosis del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *J. rhombifolia*, administrado por vía oral, frente a los modelos de lesiones gástricas inducidas experimentalmente con etanol absoluto y otros agentes necrosantes en ratas Wistar de ambos sexos.
- b) Determinar el/los mecanismo/s de acción que participa/n en la actividad gastro protectora.
- c) Comprobar la actividad protectora de diferentes dosis del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *J. rhombifolia*, administrado por vía oral, frente a un modelo de hepatotoxicidad producida experimentalmente por paracetamol en ratas Wistar de ambos sexos.

### **Marco Teórico**

La concepción inductivista fue ampliamente criticada, por destacados representantes del Círculo de Viena, entre ellos Carnap y Hempel, quienes la llamaron estrecho, versión que se conoce también con el nombre de verificacionismo. A estos epistemólogos se les reconoce la autoría de la versión del inductivismo en sentido amplio, se trata de una versión más sofisticada del inductivismo, también conocida como confirmacionismo. Rudolf Carnap proponía que más que el enunciado de leyes, el método científico debía establecer “el grado de confirmación de la hipótesis”. En este sentido, Rudolf Carnap y Hans Reichenbach confluyen en que la lógica inductiva, así como la lógica deductiva no puede en si misma establecer conclusiones verdaderas, siendo la reiteración de los experimentos y la obtención de un amplio número de consecuencias observacionales verdaderas lo que permite confirmar una hipótesis y obtener un alto grado de `probabilidad, esta probabilidad permitiría la medición, consecuentemente, las leyes tendrían un mayor o menor grado de confirmación. (Ambrosini y Beraldi, 2018).

Como se mencionó en el párrafo anterior, Carl Hempel es uno de los más importantes referentes del inductivismo en sentido amplio, o confirmacionismo, se apoya por un lado en el método hipotético deductivo, que comienza con el planteamiento de problemas y se conjeturan luego hipótesis debiendo los científicos tratar de demostrar la verdad, tratando de no incurrir en la FAC (falacia de afirmación del consecuente), por el otro, toma del inductivismo para la justificación. El verificacionismo o inductivismo ingenuo o estrecho es llamado así porque capta la realidad tal cual es, comienza con la observación del científico a partir de ciertas regularidades que se traducen en enunciados observacionales, que son tomados por lo verificacionistas como premisa de un razonamiento inductivo y pretende dar enunciados universales mediante la generalización.

El confirmacionismo es una de las formas del método hipotético deductivismo, dándole una gran relevancia a la contrastación empírica, la ciencia comienza con problemas por lo que se formulan hipótesis, se derivan las hipótesis hasta alcanzar la implicación contrastadora, la contrastación propiamente dicha y los resultados donde se refuta la hipótesis o se confirma transitoriamente (Mombrú Ruggiero, 2019).

A raíz de lo anteriormente expresado, se plantean interrogantes acerca de la efectividad de los medicamentos naturales, el mecanismo de acción y su toxicidad, a pesar de todos los adelantos técnicos y científicos, la medicina actual se enfrenta al hecho de que un gran porcentaje de la población mundial no tiene posibilidades de

acceso a ningún medicamento, por causa de situaciones de pobreza en las que han derivado muchos países, y también al alto costo de los medicamentos. Esta realidad ha determinado la aplicación y planificación de una serie de acciones por parte de la OMS, entre ellas:

- promover la seguridad, eficacia y calidad de la medicina tradicional mediante la ampliación de la base de conocimientos y la prestación de asesoramiento sobre normas reglamentarias y de garantía de la calidad.
- mejorar la disponibilidad y asequibilidad de la medicina tradicional, y especialmente el acceso de las personas pobres.
- promover el uso terapéutico racional de la medicina tradicional entre los profesionales y los usuarios. (OMS, 2013, p. 11).

Los esfuerzos que el hombre ha realizado para vencer las enfermedades han sido siempre apreciables y desde los albores de la humanidad se forjaron los conocimientos necesarios para la preparación experimental de medicamentos naturales. En la época sumeria se elaboró una tabla de arcilla con un listado de productos naturales medicamentosos, cuyo contenido fue transcrito por Kramer y constituye la Farmacopea más antigua que se conoce. Para la elaboración de sus medicamentos los sumerios recurrían al uso de vegetales, animales y minerales. Entre los minerales utilizaban el cloruro de sodio (sal común) y el nitrato de potasio (salitre); y entre los productos animales, la leche, la piel de serpiente, la concha de tortuga. La mayoría de sus medicamentos eran extraídos de vegetales, utilizaban: la casia, el mirto y el tomillo, árboles como el sauce, la higuera y la palmera datilera.

### **Uso de plantas o sustancias vegetales con fines medicinales**

La fitomedicina ha adquirido cada vez más importancia por el aporte socioeconómico de la salud, además resulta de interés para iniciar la búsqueda de nuevos principios activos que serán útiles para la medicina alopática. En tal sentido, la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología médica (ANMAT), organismo descentralizado de la Administración Pública Nacional, colabora en la protección de la salud humana, asegurando la calidad de los productos de su competencia, es decir de medicamentos, alimentos, productos médicos, reactivos de diagnóstico, cosméticos, suplementos dietarios y productos de uso doméstico. Es

por ello que, en la disposición ANMAT N° 2819/2004 (con las modificaciones de la Disp. ANMAT N° 4844/2005) se aprobaron los lineamientos generales de “Buenas Prácticas de Fabricación para Elaboradores, Importadores/ Exportadores de Medicamentos”, y en su artículo 1° anexo II aporta los lineamientos acerca de la calificación y validación de especialidades medicinales.

La especie *J. rhombifolia* en un árbol mediano, cuya altura oscila entre 2 y 5 metros, sus características: follaje persistente, hoja color verde oscuro con forma romboidal, con una espina punzante en el ápice y con una prominente nervadura central. Esta especie conocida vulgarmente como “peje” o “sombra de toro”, se ha utilizado para el uso medicinal, por lo que esta investigación se orienta fundamentalmente a validar su acción farmacológica como protector gastroduodenal y protector hepático. Para ello se utilizaron modelos experimentales *in vivo* (en animales de laboratorio). “Se define como animal de laboratorio a todo aquel ser vivo no humano, vertebrado o invertebrado usado para la experimentación y otros fines científicos” (Romero-Fernandez *et.al.*, 2016). Como se mencionó anteriormente, su uso se debe a la analogía fisiológica con la especie humana y se regula por estrictas normas éticas nacionales e internacionales.

### **Funcionamiento del Bioterio**

El Bioterio es el lugar donde se aloja los animales de experimentación, posee una zona limpia y una sucia, su personal debidamente capacitado y experimentado se encarga de la crianza, cuidado, mantenimiento y limpieza, debiendo garantizar además un estado perfecto de salud física y mental, resguardando su entorno, libre de ruido y con una temperatura estable, ventilación e iluminación, poniendo especial énfasis en una correcta hidratación y alimentación. Para este tipo de actividades, es necesario, además, que cada institución donde se realice estas prácticas cuente con un comité institucional de cuidado y uso de animales de experimentación (CICUA). Al igual modo, para el funcionamiento de Bioterio, se requiere autorización de la ANMAT, que lo reglamenta para la producción de medicamentos para uso humano, y el SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria) reglamenta los laboratorios que realizan estudios toxicológicos, eco toxicológicos y determinaciones analíticas en productos fitosanitarios, y la Coordinación de Bienestar Animal del SENASA, están

encargadas del bienestar animal en todas sus etapas de producción (Romero-Fernandez *et al.*, 2016).

Las diferentes patologías que concierne al tracto gastrointestinal son por sus características fisiopatológicas de difícil prevención. Enfermedades como el reflujo gastroesofágico, la ulceración gastroduodenal, la dispepsia no ulcerosa, la gastropatía por antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y el síndrome de Zollinger-Elison son entidades, todas diferentes, pero englobadas conjuntamente bajo la denominación de enfermedades relacionadas con el ácido. Su etiología es diversa, pero conllevan un desequilibrio entre los agentes irritativos locales y los mecanismos protectores del epitelio digestivo superior. Entre los primeros se destaca la secreción ácida gástrica y además la infección por *Helicobacter pylori*, los ácidos biliares, la pepsina y/o la frecuente presencia de productos químicos exógenos (AINE, cafeína, etanol, etc.). Como mecanismos protectores cabe destacar la secreción de mucosidad por parte de las células mucosas o el bicarbonato, secretado tanto en la región del antro como del duodeno. Junto a estos factores, la integridad de la mucosa queda asegurada por mecanismos específicos de reparación y por la existencia de una vascularización particularmente rica, que proporciona los elementos metabólicamente necesarios para asegurar una buena capacidad de resistencia frente a la agresión. Por último, las fibras nerviosas, incluidas las sensoriales, y los mediadores como el óxido nítrico o eicosanoides como la dinoprostona (PGE<sub>2</sub>) y la prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) se consideran esenciales en la regulación de todos los factores involucrados en la defensa de la integridad de la mucosa (Esplugues y Martí-Cabrera, 2014). De acuerdo con estos conceptos, el tratamiento farmacológico de la úlcera gastroduodenal va dirigido a neutralizar o inhibir la secreción de ácido clorhídrico, a reforzar la resistencia de la mucosa y facilitar su cicatrización (Esplugues y Martí-Cabrera, 2014).

Se conoce como citoprotección directa a la protección de la mucosa gástrica (gastroprotección) provocada por la administración de prostaglandinas exógenas (Tsukimi y Okabe, 2001). La citoprotección adaptativa está mediada por la liberación de las prostaglandinas de la mucosa gástrica (Konturek, 1990; Tsukimi y Okabe, 2001).

Los tratamientos actuales suelen producir efectos secundarios, razón por la cual se ha incrementado la búsqueda y evaluación de nuevos agentes terapéuticos provenientes de plantas.

Por otro lado, el efecto hepatoprotector que se pretende validar también con este trabajo, tiene por objeto proteger al hígado de agentes externos e internos, mejorando el funcionamiento de las células hepáticas, protegiendo al hígado de las hepatotoxinas.

Tanto la Etnobotánica como la medicina popular han reportado una variedad de plantas medicinales, utilizadas en las enfermedades gastrointestinales con efecto hepatoprotector debido a su alto contenido de compuestos polifenólicos. Por ejemplo, el *Silybum marianum* L. posee un efecto hepatoprotector debido a la presencia de flavolignanos. Dicho compuesto es quizás el más utilizado por la Medicina Alternativa Complementaria (MAC) en los tratamientos de enfermedades hepáticas. (Rosales *et al.*, 2017, p.3).

El hígado es un órgano de metabolización de diferentes sustancias, ya sean nutrientes o fármacos. Los productos metabólicos pueden ser metabolitos activos, inactivos o tóxicos. La toxicidad que producen puede ser hepatocelular o citotóxica, colestásica o mixta. La gravedad varía desde alteraciones bioquímicas hasta una sintomatología moderada, grave e incluso mortal. El paracetamol o acetaminofén es un derivado de la anilina que posee eficacia antitérmica y analgésica. Es metabolizado hasta el 95% en el hígado. Los principales metabolitos son conjugados con ácido glucurónico o sulfato. Una pequeña fracción (4-5%) se convierte en la fracción microsómica utilizando el sistema de oxidasas mixtas y citocromo P-450, de esta conversión se genera un metabolito extremadamente reactivo, la N-acetilbenzoquinoneimida, con dosis de paracetamol muy elevadas, las vías metabólicas se saturan y la velocidad de formación de este metabolito aumenta y provoca una necrosis hepática (Feria, 2014). Debido a su toxicidad es utilizado como modelo experimental para investigar la acción hepatoprotectora de diversos compuestos. Es por eso que se ha elegido al Paracetamol para evaluar la posible acción protectora de *J. rhombifolia*.

### **Estudio en animales de experimentación**

Los estudios farmacológicos demandan el uso de una gran cantidad de animales de experimentación. No obstante, debido a presiones económicas y sociales

la tendencia mundial es disminuir gradualmente el uso de animales de laboratorio. El principio de las 3R, introducido por Russell y Burch (1959) se refiere a reemplazo de los ensayos con animales por métodos *in vitro*, reducción del número de animales, mediante el uso de una estadística apropiada y refinamiento de los ensayos, destinado a disminuir el sufrimiento de los animales, se ha incorporado progresivamente al trabajo de los científicos (Broadhead y Combes, 1996; Mukerjee, 1997).

Los modelos animales utilizados para reproducir las patologías del tracto digestivo han sido de mucha utilidad para el estudio de la fisiología, la patología y la terapéutica, ya que los modelos *in vitro* son insuficientes y no contemplan por ejemplo el metabolismo producido en un animal entero. Las úlceras pépticas pueden ser inducidas por manipulaciones fisiológicas, farmacológicas o quirúrgicas en varias especies animales. Sin embargo, la mayoría de los experimentos en estudios de úlcera péptica se llevan a cabo en roedores: ratas y ratones (Adinortey *et al.*, 2013).

### **Estado de la Cuestión**

Diversos autores han estudiado algunos aspectos de *J. rhombifolia*. Uno de ellos está relacionado con la actividad antibacteriana de extracto de hojas de *Ligaria cuneifolia* Tiegh. (Loranthaceae) y *J. rhombifolia* contra bacterias fitopatógenas y clínicas (Soberon *et al.*, 2014). En este artículo se analizaron las propiedades antimicrobianas de estas especies y se concluyó que *J. rhombifolia* no poseía esa actividad.

Otro trabajo realizado en base a la especie arbórea es un estudio morfoestructural en *J. rhombifolia*, en el cual se aporta información sobre distribución, estructura de órganos vegetativos y reproductivos, parasitismo, germinación y propagación. (Luna *et al.*, 2003).

Montanha *et al.* (2009) demostraron propiedades antiulcerogénicas de los extractos acuosos e hidroetanólicos de partes aéreas de *J. rhombifolia* a las dosis de 250 y 750 mg/kg bajo aplicación del modelo experimental de úlceras gástricas inducidas por HCl/etanol en ratas Wistar, atribuyeron a la presencia de C-glicosilflavonoides (2-vicenina, vitexina, orientina y swertisina) la actividad antiulcerosa manifestada por los extractos vegetales.



Por su parte, Toso *et al.* (2010) informaron que el extracto hidroalcohólico de *J. rhombifolia* motivó una reducción total en el desarrollo de úlceras gástricas ocasionadas experimentalmente en ratones por estrés por frío. Este grupo de investigadores concluyó que los C-glicosilflavonoides son los principales responsables de la actividad antiulcerosa manifestada por los extractos vegetales.

Asimismo, en otra investigación se demostró que el extracto acuoso liofilizado de las hojas de *J. rhombifolia* manifestó propiedades antialcohólicas al ocasionar una reducción en el consumo voluntario de etanol en ratas Wistar machos adultas y machos adolescentes (Teves *et al.*, 2015a; 2015b).

Otra investigación realizada en relación a esta especie es “Actividad diurética de extractos metanólicos de partes aéreas de *J. rhombifolia* en ratas Wistar” cuyo objetivo fue evaluar la actividad diurética de extractos metanólicos de diferentes partes aéreas (hojas, corteza, floema y ramas de aproximadamente tres años). Los resultados experimentales demostraron que los extractos metanólicos de las partes aéreas de *J. rhombifolia* (hojas, corteza, floema y ramas de aproximadamente tres años) actúan como agentes diuréticos en ratas, con un aumento en la excreción del volumen total de orina. (Teves *et al.*, 2018).

# Capítulo 2

## Fundamentos Epistemológicos y Metodológicos

Como se mencionó en el capítulo anterior, este trabajo se encuadra dentro de un programa de investigación científica, integrado por proyectos de investigación y actividades científicas, constituido por un marco epistémico propio, donde interactúa con diferentes unidades de análisis, métodos para abordar el conocimiento, teorías que forman parte de un núcleo duro de tradición en investigación.

Consecuentemente, esta tesis se orientó básicamente al estudio de la especie vegetal: *J. rhombifolia*. La utilización de herramientas metodológicas, diferentes métodos de investigación y fundamentos epistemológicos permitieron confirmar ciertas propiedades terapéuticas que se le atribuyen a esta especie vegetal en el ámbito comunitario. El enfoque abordado en relación a su objeto y a su determinación teórica correspondió a las fases explicativa y descriptiva. La fase explicativa, señala Mombrú:

[...]las investigaciones explicativas están dirigidas a responder a las causas de los eventos físicos o sociales y, por tanto, a proyectar predicciones que sostengan que, en iguales condiciones sobre un objeto similar, ciertas causas provocarán tales efectos. (Mombrú Ruggiero y Margetic, 2013, p. 66).

Asimismo, la descripción sentó las bases para el desarrollo de la tesis, revelando los diferentes supuestos en torno al objeto de análisis, y los procedimientos que debieron realizarse para el logro de la mejor medición en laboratorio mediante medios estandarizados en animales de experimentación.

En relación a la hipótesis sustantiva presente en la fase sintética correspondió a “La especie herbaria “*J. rhombifolia*” conocida popularmente como “peje” posee propiedades medicinales. La hipótesis de trabajo presente en esta fase “La especie *J. rhombifolia* conocida popularmente como peje, ejerce actividad farmacológica como protector gástrico y duodenal frente al efecto ulcerogénico de etanol.”; “Los mecanismos de acción que participan en su efecto protector gástrico se debe a la participación de prostaglandinas, óxido nítrico y/o grupos sulfhidrilos” “A la especie

*J. rhombifolia* se le atribuye en el ámbito comunitario actividad farmacológica como protector hepático” (Duarte, 2021).

Para el desarrollo del trabajo, fue necesario la utilización de procedimientos, instrumentos y experimentos para confirmar o refutar la hipótesis planteada acerca de las propiedades medicinales de la especie *J. rhombifolia*.

Desde el proyecto de investigación, a una escala micro se pudo observar tres grandes fases: la fase sincrética o fase 1, la fase analítica o fase 2 y fase sintética o fase 3, las cuales no tienen secuencia lineal, pero guardan una intensa relación entre ellas. En la fase sincrética que se podría llamar como fase acumulativa, se ponen en juego los métodos de la tenacidad, el método de la tradición, el método de la reflexión, y el método de la eficacia o de la ciencia, este último método más cerca a los problemas de investigación, modelos teóricos, incluye los objetivos, y las conjeturas o hipótesis. Por su parte, la fase analítica se podría llamar de varias formas: fase de fragmentación, porque se debe fragmentar para su análisis, fase de orden, en esta fase se debe organizar los datos del proceso para el tratamiento empírico y su posterior análisis, fase recursiva porque permite volver y ajustar sobre la fase 1 en esta fase la integran a partir de la hipótesis de trabajo, el diseño empírico, el diseño operativo o instrumentalización y la producción de los datos. La fase sintética, a su vez, se podría llamar también fase de resumen o producto, porque permite unir la unidad fragmentada en la fase anterior, en esta fase permite comprender, interpretar el producto nuevo realizado, así como puede dar curso a nuevas investigaciones. Así, en esta fase a partir de los datos obtenidos se realiza el tratamiento de los mismos y su posterior interpretación que da lugar al nuevo objeto (Ynoub, 2007).

Mombrú Ruggiero y Margetic (2013) en relación a la primera fase, también lo describe como instancias de validación conceptual, que corresponde a la profundización de conceptos y conocimiento, donde debe estar apoyado en un sólido aparato crítico que respalde los argumentos presentados, con fuentes confiables y pasibles de contrastación teóricas y empíricas. La instancia siguiente corresponde a la fase experimental, en ella se debe asegurar además de las fuentes confiables, la mayor precisión en los instrumentos de recolección de datos, y adecuado al objeto de estudio a través de técnicas y criterios bien establecidos con procedimientos lógico

metodológico verificados anteriormente. Como fase final, se encuentra la validación expositiva en la que se expone e informa en primera instancia a los referentes inmediatos de la comunidad científica y/o académica, la marcha de la investigación y los resultados que se vienen obteniendo (Mombrú Ruggiero y Margetic, 2013).

En relación a la matriz de datos, y a diferencia de la propuesta realizada por Galtung (1968), en el que sostenía que se constituía por tres componentes, Samaja entiende que la misma, esta compuesta por cuatro componentes: la unidad de análisis (UA), las variables (V), los valores (V) y los indicadores (I) (Samaja, 2003).

Samaja (2003) sostiene que, todo objeto de investigación es por sí mismo complejo, en el que se puede identificar como mínimo tres matrices de datos: una matriz central (nivel de anclaje) que en el presente trabajo correspondió a las propiedades terapéuticas de las hojas de la *J. rhombifolia* conocida popularmente como “peje”; una matriz supraunitaria, constituida por los contextos, que estaría dada por esta misma especie herbaria y su uso medicinal y no medicinal de la *J. rhombifolia*; y la matriz subunitaria por los mecanismos de acción que actúan en la protección gástrica.

La solución liofilizada de las hojas del peje correspondió a la variable independiente: las diferentes dosis administradas: 250 mg/kg, 500 mg/kg, 1000 mg/kg; donde los “mg” corresponden a la cantidad de extracto acuoso liofilizado de la planta; mientras que los “kg” se refieren al peso del animal. En el mismo sentido, las variables dependientes tienen que ver con el efecto/respuesta que estas dosis producen en los órganos estudiados de los animales de experimentación. Consecuentemente, también se tuvo en cuenta como variables pertenecientes al grupo control positivo, control de protección (con administración de carbenoxolona + etanol) y el control, negativo o control de daño (con solución fisiológica + el etanol). Asimismo, ante el ensayo realizado para determinar el efecto del extracto liofilizado de *J. rhombifolia*, sobre el daño hepático experimental inducido por paracetamol., las dosis administradas con el pretratamiento serían las variables independientes mientras que, las variables dependientes estarían representadas por el daño o protección hepática.

En lo que respecta al control de las variables extrañas o contaminadoras, se advirtió sobre las variables que podrían interferir en la experimentación, poniendo

especial cuidado en la recolección, en el proceso de la solución liofilizada, y en las condiciones de mantenimiento de los animales previo a la contrastación empírica (Ynoub, 2007).

En cuanto a las dimensiones de análisis o variables, Ynoub (2007), explica que, son aspectos, características, que se han seleccionado para su estudio; tomando nuevamente este caso, se detalló en la siguiente Tabla, las variables de estudio, en el mismo, se determinaron además, indicadores y valores (Ynoub, 2007).

Continuando con los indicadores, y haciendo alusión a lo expuesto por Ynoub R.:

Los indicadores tienen precisamente esa función: conectar el mundo inteligible con el mundo sensible, lo empírico con la teoría. No se trata de una conexión directa (como lo pretendía el empirismo ingenuo): siempre se interpone alguna operación (es decir, un esquema de acción) que hace posible la transducción entre un plano y otro (irreducibles entre sí) (Ynoub, 2007, p.230).

**TABLA 1**

*Matriz de Datos según la Propuesta de Samaja (2003)*

VARIABLE	INDICADOR	VALOR
*Dosis de solución liofilizada de 250 mg/kg	Área de erosión de la mucosa gástrica.	Lesión gástrica en mm <sup>2</sup>
*Dosis de solución liofilizada de 500 mg/kg	Área de erosión de la mucosa gástrica.	Lesión gástrica en mm <sup>2</sup>
*Dosis de solución liofilizada de 1000 mg/kg	Área de erosión de la mucosa gástrica.	Lesión gástrica en mm <sup>2</sup>
Control negativo 1ml de Solución fisiológica	Área de erosión de la mucosa gástrica.	Lesión gástrica en mm <sup>2</sup>
Control positivo Carbenoxolona 250mg/kg	Área de erosión de la mucosa gástrica	Lesión gástrica en mm <sup>2</sup>

*Nota.* Validación gastro-protectora

**TABLA 2***Matriz de Datos según la Propuesta de Samaja (2003)*

<b>VARIABLE</b>	<b>INDICADOR</b>	<b>VALOR</b>
*Dosis de solución liofilizada de 500 mg/Kg	GOT (Transaminasa glutámico oxalacética), GPT (Transaminasa glutámico-pirúvica) y FAL (Fosfatasa alcalina).	Valores de las determinaciones GOT; GPT y FAL
*Dosis de solución liofilizada de 1000 mg/Kg	GOT (Transaminasa glutámico oxalacética), GPT (Transaminasa glutámico-pirúvica) y FAL (Fosfatasa alcalina).	Valores de las determinaciones GOT; GPT y FAL
*Control negativo (1ml de Solución fisiológica)	GOT (Transaminasa glutámico oxalacética), GPT (Transaminasa glutámico-pirúvica) y FAL (Fosfatasa alcalina).	Valores de las determinaciones GOT; GPT y FAL
*Control positivo (Silimarina 200 mg/kg)	GOT (Transaminasa glutámico oxalacética), GPT (Transaminasa glutámico-pirúvica) y FAL (Fosfatasa alcalina).	Valores de las determinaciones GOT; GPT y FAL

*Nota.* Validación protectora hepática

Tomando en cuenta lo anteriormente expuesto, para determinar el grado de lesión se consideró el propuesto por Khan (2004). Después de realizar una evaluación visual macroscópica, las muestras se colocan entre dos láminas de plástico transparente, presionando cuidadosamente. Posteriormente se escanean para luego ser analizadas utilizando un programa desarrollado por el Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos de América (NIH). Concisamente, la imagen escaneada se convierte en escala de grises, se registra el área de la mucosa total, (Tabla 1) se resta el área sin lesión y se mide el área de la lesión gástrica (12 píxeles= 1 mm) (Sibila *et al.*, 2007). Este método ofrece la ventaja de tener muy bajo costo y una alta eficacia para determinar el área afectada, por muy pequeñas que sean las lesiones. (Paredes, 2017).

Se trabajó con ratas Wistar (150-200 g, seis a ocho animales por lote) agrupadas en un lote control positivo con administración de carbenoxolona y el control, negativo con solución fisiológica, lotes experimentales que recibieron la solución liofilizado, 60 minutos previos al agente necrosante.

El etanol es considerado un factor de riesgo para el desarrollo de úlceras gástricas, penetra en la mucosa gástrica debido a la solubilidad en el mucus y expone a la misma a la acción proteolítica e hidrolítica del HCl y pepsina. También estimula la secreción de ácido y reduce el flujo sanguíneo provocando daño microvascular y la interrupción del endotelio vascular, favoreciendo una mayor permeabilidad (Buenor Adinortey *et al.*, 2013).

La carbenoxolona, por su parte, es un derivado del ácido glicirrónico de la raíz del regaliz que se utiliza para el tratamiento de las úlceras del estómago, posee propiedades protectoras, antiinflamatorias y cicatrizantes. (Pacho Saavedra y Pinol Jimenez, 2005).

Asimismo, en relación a la Tabla 2, los animales de experimentación que recibieron pretratamiento con *J. rhombifolia* en dosis de 500 y 1000 mg/kg, respectivamente, y los grupos control, de acuerdo al protocolo de Gilani *et al.* (1992) durante cuatro días consecutivos y tras la administración de dosis de paracetamol hepatotóxicas; se extrajo sangre y se realizaron las determinaciones de GOT, GPT y FAL, siendo estas determinaciones enzimáticas los indicadores, y los valores los resultados de los mismos. Como control positivo se utilizó la silimarina, es un



flavonoglicano extraído de las semillas y el fruto de *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (Asteraceae) o llamado comúnmente cardo mariano, este flavonoide cuyo compuesto principal es la silibina, sustancia bien documentada y utilizada en animales de experimentación, por sus efectos hepatoprotectores contra el estrés oxidativo y contra la hepatotoxicidad producida por múltiples sustancias tóxicas (Vázquez Frías *et al.*, 2013).

Retomando lo expuesto por Ynoub, 2007

[...]son resultado de una historia constructiva. Cuando se diseña un indicador, el investigador está asumiendo un compromiso con un cierto marco conceptual y una matriz epistémica; con una cierta tradición investigativa en la que se inscribe (de hecho, es frecuente usar los indicadores que ya están validados en esa comunidad o tradición científica, o validar los propios por referencia a ellos (Ynoub 2007, p.267).

Como se ha descrito en el párrafo anterior se ha reproducido experiencias y protocolos trabajados en numerosas investigaciones, como la de Melchiorri *et al.* (1997) en experimentación en modelos *in vivo* con animales, y el método de Sibila *et al.*, 2007, para determinar la lesión gástrica en mm<sup>2</sup>, el de Gilani *et al.* (1992) y Robert *et al.* (1979). Trabajos como los mencionados forman parte de marco epistémico de estas investigaciones donde desde hace varios años se desarrollan actividades que permiten evaluar la actividad en el tracto gastrointestinal y hepático con productos naturales de origen vegetal, profundizando también en el conocimiento del mecanismo de acción de aquellos que muestran mayor eficacia.

### **Conclusión sobre los Fundamentos Epistemológicos y Metodológicos**

Resumiendo, la postura de Hempel se relacionó con el hipotético deductivo a través del contexto de descubrimiento, y con el inductivismo con el contexto de justificación. Se comenzó con el planteo del problema, se continuó con una hipótesis, en el que se dedujo del mismo la implicación contrastadora, y se prosiguió con la contratación empírica, concluyendo con la confirmación del experimento. (Mombrú Ruggiero, 2019)

“La implicación contrastadora es un supuesto teórico que indica lo que debería pasar en el plano empírico para que la hipótesis sea correcta, o de lo contrario, para que sea incorrecta” (Mombrú Ruggiero, 2019, p.227). De tal forma, en el trabajo realizado, la implicación contrastadora resultó verdadera, por lo que la hipótesis fue corroborada y su aceptación es provisoria.

Si H (hipótesis) es verdadera, entonces también lo es I (implicación contrastadora) Pero como se demuestra empíricamente I es verdadera. Por lo tanto, H es verdadera, ha resultado corroborada y su aceptación es provisoria. (Mombrú Ruggiero y Piñeiro, 2017, p.272)

Retomando las hipótesis de trabajo “La especie *J. rhombifolia* conocida popularmente como “peje”, ejerce actividad farmacológica como protector gástrico y duodenal frente al efecto ulcerogénico de etanol.”; “Los mecanismos de acción que participan en su efecto protector gástrico se debe a la participación de prostaglandinas, óxido nítrico y/o grupos sulfhidrilos” “A la especie *J. rhombifolia* se le atribuye en el ámbito comunitario actividad farmacológica como protector hepático.” En relación a las hipótesis planteadas, Hempel no desconoce el problema de la confirmación, como lo es la falacia de afirmación del consecuente y que representa una forma de razonamiento inválida desde el punto de vista de la lógica deductiva, con premisas verdaderas y conclusiones que pueden llegar a ser falsas, por lo que no verificaría la hipótesis. “Así, el conocimiento científico no es un conocimiento probado, sin embargo, puede representar un conocimiento que es probablemente verdadero” (Abrosini y Beraldi, 2018, p.349).

# Capítulo 3

**Taxonomía de la especie *J. rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae).**

Este capítulo se refiere a la descripción del material vegetal, *J. rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae), su estudio taxonómico descripción botánica y su utilización medicinal y no medicinal.

Etimológicamente *J. rhombifolia* probablemente proviene del griego Iodókos, que contiene flechas, derivado de iós, flecha, aludiendo a la forma de las hojas y rhombifolia, del latín rhombus, rombo y folium, hoja. Es originaria de zonas tropicales y subtropicales de América, muy común en Argentina, también se las puede encontrar en Uruguay, Brasil, Bolivia o Paraguay. (Luna, *et al* 2017)

Dentro de nuestro país (Argentina) se la puede encontrar en las provincias de Catamarca, Chaco, Córdoba, Corrientes, Formosa, Jujuy, La Pampa, La Rioja, Mendoza, Río Negro, Salta, Santiago del Estero, Santa Fe, San Juan, San Luis y Tucumán (Zuloaga *et al.*, 2008). Esta especie pertenece a la familia de la Santalaceae, de acuerdo a la base de datos “Trópicos del Missouri Botanical Garden” el género *Jodina* Hook. & Arn. ex Meisn. está representado por esta única especie, (Ruiz, *et al.* 2007)

Esta especie vegetal se clasifica en las siguientes categorías taxonómicas:

Reino: Plantae

División: Angiosperms

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superorden: Santalanae Thorne ex Reveal

Orden: Santalales R. Br. ex Bercht. & J. Presl

Familia: Santalaceae R. Br.

Género: *Jodina* Hook. & Arn. ex Meisn.

Especie: *J. rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek

Además, de acuerdo a la base de datos Trópicos: *Celastrus rhombifolius* Hook. & Arn., *Ilex cuneifolia* var. *bonariensis* DC., *Jodina rhombifolia* Hook. & Arn., *Jodina*

*bonariensis* (DC.) Kuntze, *Jodina cuneifolia* (L.) Miers y *Jodina ruscifolia* Hook. & Arn. son considerados sinónimos de *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Trópicos.org, 2022).

### Descripción Botánica

Es un árbol pequeño o arbusto de 2 a 5 m (hasta 8 m) de altura, muy ramoso, de copa globosa, perennifolio, con ramas inermes y de follaje verde brillante (Figura 1).

### Figura 1

Fotografías de Ejemplares de *J. rhombifolia*



Las hojas son persistentes, simples, alternas, coriáceas, glabras, pecioladas, de color verde oscuro, margen entero, 3-7 cm de largo y 2-3 cm de ancho, de forma romboidal y con vértices provistos de espinas (una espina en el ápice y dos más cortas en cada uno de los vértices laterales); la nervadura central es prominente (Figura 2).

La corteza es de color café rojizo a canela con profundas grietas longitudinales (Figura 3A). Las flores son pequeñas, con pedicelo corto o ausente y agrupadas en glomérulos axilares densos de 6-15 flores; de color amarillo verdoso, actinomorfa, hermafrodita, pentámeras, perfumada, un disco de néctar alterno a pétalos, con brácteas y bractéolas carnosas y pubescentes; bráctea floral persistente (Figura 3B).

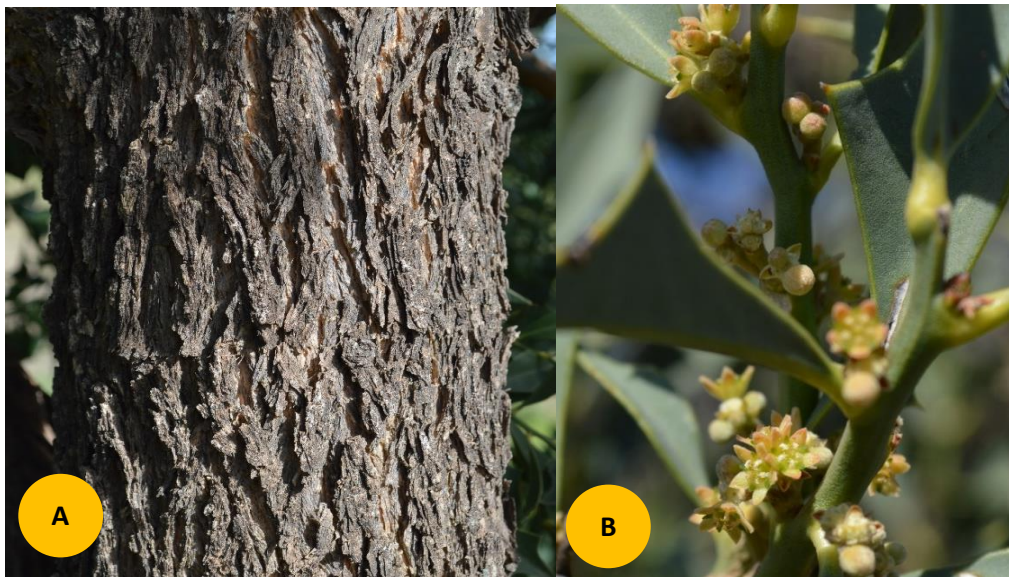


**Figura 2**

*Fotografías de las Hojas de J. rhombifolia*

**Figura 3**

*Fotografías de J. rhombifolia. A: Corteza; B: Flores*



Perigonio acampanado, grueso, dividido en 5 tépalos peltados que recubre en la parte inferior al receptáculo. Estambres: 5, opuestos a los pétalos con filamentos cortos y anteras grandes, casi cubiertos por una abundante mata de tricomas. Anteras: introrsas, dorsifijas, bitecas, con dehiscencia longitudinal. Ovario: semiínfero, unilocular, piriforme, columna placentaria retorcida; estilo: alargado, cilíndrico, dilatado, con borde ligeramente ondulado.

El fruto de *J. rhombifolia* es considerado como una pseudodrupa, debido a que la pared del fruto está constituida por los pétalos persistentes rojizos, junto con el disco

nectario modificado - “capa carnosa blanca”- más el mesocarpo esclerificado (Luna *et al.*, 2017). El fruto es de forma globosa, con epicarpo rugoso, tépalos persistentes que se abren a su madurez, superficie del exocarpo con cinco secciones (basal y apicalmente dehiscente), roja, 6-8 mm de diámetro (Figura 4) (Cabrera, 1967; Cabrera & Zardini, 1993; Dimitri, 1987; Kuijt & Hansen, 2015; Lahitte *et al.*, 1999; Rogers *et al.*, 2008; Zapater, 1993).

#### Figura 4

Fotografías de frutos de *J. rhombifolia*



La floración ocurre solo en invierno y tiene una limitada fructificación durante la temporada de primavera (Murriello *et al.*, 1993). Es un árbol que parasita las raíces de especies de diferentes familias: *Prosopis alba* Griseb.; *P. nigra* Hieron.; *P. caldenia* Burkart; *P. flexuosa* DC.; *P. chilensis* (Molina) Stuntz (Leguminosae); *Celtis tala* Gillies ex Planch. (Cannabaceae); *Schinus fasciculata* (Griseb.) I.M. Johnst. (Anacardiaceae); *Porlieria microphylla* (Baill.) Descole, O'Donnell & Lourteig (Zygophyllaceae); *Scutia buxifolia* Reissek (Rhamnaceae) y *Geoffroea decorticans* (Hook. & Arn.) Burkart (Leguminosae) (Amuchástegui *et al.*, 2003; Luna & Giudice, 2005).

#### Nombres vulgares

En español: “chinchillín”, “chirilín”, “peje”, “quebrachillo”, “quebrachillo flojo”, “quebracho blanco”, “quebracho blando”, “quebracho flojo”, “quichirín”, “quinchilín”, “quinchillo”, “quinchirín”, “quincillo”, “quirilín”, “sangre de toro”, “sauce colorado”, “sombra de toro”, “sombra de toro macho”, “toro-pisombra”, “toro ratay”, “toro sombreana” (Alonso & Desmarchelier, 2015; Arambarri *et al.*, 2011; De

la Peña & Pensiero, 2004; Demaio *et al.*, 2015; Guerrero Maldonado, 2008; Roic & Villaverde, 2007; Steibel & Troiani, 1996).

En portugués: “cancerosa”, “cancorosa”, “cancorosa de três espinhos”, “cancorosade-três-pontas”, “cancrosa”, “concorosa”, “erva-cancorosa”, “erva-cancrosa”, “espinheirade-três-pontas”, “pau-de-sapo”, “quebracho-flojo”, “quirilin”, “sombra-de-tolo”, “sombra de touro” (Brião *et al.*, 2016; Coradin *et al.*, 2011; Mentz *et al.*, 1997; Ribeiro *et al.*, 2017; Seixas de Oliveira, 2008; Simões *et al.*, 1998). En Toba: “she’laue” or “naranja late’e” (Martínez, 2011). En Mapuche: “pachahua” in Mapuche (Alonso & Desmarchelier, 2015). En Pilagá: “pa’Gañik” (Filipov, 1994). En nomenclatura Moqoit: “shichí’labík” (Scarpa & Rosso, 2014).

### ***Usos en la Medicina Tradicional de Argentina***

De acuerdo al estudio etnofarmacológico de los usos populares de la *Jodina rhombifolia* realizado por Teves (2018), en el que indagó sobre los usos medicinales de esta especie herbaria, en diferentes bases de datos científicas electrónicas Science Direct, Scopus, PubMed, Springer y SciELO, además en Google y Google Scholar, como artículos publicados en revistas revisadas por pares, tesis, libros y referencias derivadas de los mismos. Producto de este estudio se elaboró en tabla 3, descripción según parte de la planta utilizada, su forma de empleo y referencia bibliográfica. (tabla 3)

**Tabla 3**

*Usos Etnomedicinales de J. rhombifolia en la Medicina Tradicional Argentina*

<b>USO POPULAR</b>	<b>PARTE UTILIZADA</b>	<b>FORMA DE USO</b>	<b>REFERENCIA</b>
<b><i>ABORTIVO</i></b>	Hojas	Infusión	Hurrell <i>et al.</i> , 2011
	Hojas	ND	Trillo <i>et al.</i> , 2010
	Hojas y corteza	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009
	ND	ND	Arias Toledo <i>et al.</i> , 2007; 2009
<b><i>ADELGAZANTE</i></b>	ND	ND	Martínez, 2015



**Tabla 3.** Continuación

<b>USO POPULAR</b>	<b>PARTE UTILIZADA</b>	<b>FORMA DE USO</b>	<b>REFERENCIA</b>
<b>ANTIALCOHÓLICO</b>	Frutos	Maceración	Furlán <i>et al.</i> , 2011
	Hojas	Infusión	Alonso & Desmarchelier, 2015;
			Demaio <i>et al.</i> , 2015; Hurrell <i>et al.</i> , 2011; Lahitte <i>et al.</i> , 1998
	Hojas	Decocción	Martínez Crovetto, 1981
	Hojas	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009; Martínez, 2005; Quiroga <i>et al.</i> , 2010
	Hojas y tallos tiernos	Infusión	Martínez, 2015
	Partes aéreas	Infusión o decocción	Martínez, 2007
ND	ND	Arias Toledo <i>et al.</i> , 2007; Campos, 2014; Karlin <i>et al.</i> , 2017 Raad, 2015; Sharry <i>et al.</i> , 2011	
<b>ANTI-NOREXÍGENO</b>	Hojas	Infusión o decocción	Martínez, 2011
<b>ANTI-ASMÁTICO</b>	Hojas	Infusión	Alonso & Desmarchelier, 2015; Hurrell <i>et al.</i> , 2011; Lahitte <i>et al.</i> , 1998

**Tabla 3.** Continuación

<b>USO POPULAR</b>	<b>PARTE UTILIZADA</b>	<b>FORMA DE USO</b>	<b>REFERENCIA</b>
<b><i>ANTIBIÓTICO Y CALMANTE BUCOFARÍNGEO</i></b> (para dolor de garganta)	Hojas	Infusión o decocción	Martínez, 2010
<b><i>ANTICATARRAL</i></b>	ND	ND	Arias Toledo <i>et al.</i> , 2007
<b><i>ANTIDIABÉTICO</i></b>	ND	ND	Arias Toledo & Trillo, 2014
<b><i>ANTIDIARREICO</i></b>	Corteza	Decocción	Alonso & Desmarchelier, 2015; Hurrell <i>et al.</i> , 2011
	Frutos, hojas y corteza	ND	Goleniowski <i>et al.</i> , 2006; Núñez & Cantero, 2000
	Hojas	Infusión o decocción	Martínez, 2011
	Hojas	ND	Trillo <i>et al.</i> , 2010
	Hojas y corteza	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009; Quiroga <i>et al.</i> , 2010
	ND	ND	Arias Toledo <i>et al.</i> , 2007, 2009; Del Vitto <i>et al.</i> , 2010
<b><i>ANTIGRIPAL</i></b>	ND	ND	Arias Toledo & Trillo, 2014
<b><i>ANTIDISENTÉRICO</i></b>	Corteza	Decocción	Alonso & Desmarchelier, 2015; Carosio <i>et al.</i> , 2008; Giménez <i>et al.</i> , 2008; Hurrell <i>et al.</i> , 2011; Lahitte <i>et al.</i> , 1998; Montesano, 1913

**Tabla 3.** Continuación

<b>USO POPULAR</b>	<b>PARTE UTILIZADA</b>	<b>FORMA DE USO</b>	<b>REFERENCIA</b>
<b>ANTIDISENTÉRICO</b>	Corteza	ND	Demaio <i>et al.</i> , 2015; Toursarkissian, 1980; Verettoni, 1985
	Corteza y hojas	Decocción	Karlin <i>et al.</i> , 2017
	Hojas y corteza	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009; Quiroga <i>et al.</i> , 2010; Ratera & Ratera, 1980
	ND	ND	Carrizo <i>et al.</i> , 2002; Raad, 2015 Roig, 2002
<b>ANTIHDRÓPICO</b>	Hojas	Infusión	Lahitte <i>et al.</i> , 1998
<b>ANTIINFLAMATORIO</b>	Frutos, hojas y corteza	ND	Goleniowski <i>et al.</i> , 2006; Núñez & Cantero, 2000
	Hojas	Infusión	Hurrell <i>et al.</i> , 2011
	Hojas y corteza	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009
	ND	ND	Del Vitto <i>et al.</i> , 2010
<b>ANTIINFLAMATORIO DEL SISTEMA DIGESTIVO</b>	Hojas y corteza	Decocción	Demaio <i>et al.</i> , 2015; Karlin <i>et al.</i> , 2017
	Hojas y corteza	ND	Ratera & Ratera, 1980
	ND	ND	Campos, 2014
<b>ANTIINFLAMATORIO DEL SISTEMA RESPIRATORIO</b>	Corteza	Decocción	Alonso & Desmarchelier, 2015
	Hojas y corteza	Decocción	Demaio <i>et al.</i> , 2015; Karlin <i>et al.</i> , 2017
	Hojas y corteza	ND	Quiroga <i>et al.</i> , 2010; Ratera & Ratera, 1980

**Tabla 3.** Continuación

<b>USO POPULAR</b>	<b>PARTE UTILIZADA</b>	<b>FORMA DE USO</b>	<b>REFERENCIA</b>
<b><i>ANTINEFRÍTICO</i></b>	Hojas	Infusión	Hurrell <i>et al.</i> , 2011
<b><i>ANTIULCEROSO</i></b>	Hojas	Extracto	Karlin <i>et al.</i> , 2017
	ND	ND	Sharry <i>et al.</i> , 2011
<b><i>ANTITUSIVO</i></b>	Flores	ND	Carosio <i>et al.</i> , 2008
	Frutos, hojas y corteza	ND	Goleniowski <i>et al.</i> , 2006; Núñez & Cantero, 2000
	Hojas	Decocción	Martínez Crovetto, 2014
	Hojas	Infusión	Carosio <i>et al.</i> , 2008; Demaio <i>et al.</i> , 2015; Hurrell <i>et al.</i> , 2011; Martínez Crovetto, 1981
	Hojas y corteza		Barboza <i>et al.</i> , 2009; Quiroga <i>et al.</i> , 2010
	Hojas y ramas	Infusión o decocción	Carrizo <i>et al.</i> , 2005
	ND	ND	Chifa & Ricciardi, 2004; Riat & Pochettino, 2015; Karlin <i>et al.</i> , 2017
<b><i>ANTIVENÉREO</i></b>	Frutos	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009; Quiroga <i>et al.</i> , 2010; Toursarkissian, 1980

**Tabla 3.** Continuación

<b>USO POPULAR</b>	<b>PARTE UTILIZADA</b>	<b>FORMA DE USO</b>	<b>REFERENCIA</b>
<b>ANTIVENÉREO</b>	ND	ND	Carrizo <i>et al.</i> , 2002; Roig, 2002; Verettoni, 1985
<b>ASTRINGENTE</b>	Corteza	Decocción	Alonso & Desmarchelier, 2015; Hurrell <i>et al.</i> , 2011
<b>CALMANTE</b>			
<b>EN DOLORES ARTICULARES</b>	Hojas y corteza	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009
<b>EN DOLORES ESTOMACALES</b>	Hojas	Infusión o decocción	Martínez, 2011
<b>EN DOLORES MUSCULARES</b>	Hojas y corteza	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009
<b>EN DOLORES RENALES</b>	Hojas y corteza	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009
<b>CICATRIZANTE Y DESINFECTANTE DE HERIDAS</b>	Frutos (jugo)	Aplicación externa	Hurrell <i>et al.</i> , 2011
<b>CORDIAL</b>	Flores	ND	Carosio <i>et al.</i> , 2008
	Frutos, hojas y corteza	ND	Goleniowski <i>et al.</i> , 2006; Núñez & Cantero, 2000
	Hojas	Infusión	Hurrell <i>et al.</i> , 2011
<b>CURATIVO DE BUBONES</b>	Frutos (aceite)	ND	Demaio <i>et al.</i> , 2015; Hieronymus, 1882; Karlin <i>et al.</i> , 2017; Montesano, 1913

**Tabla 3.** Continuación

<b>USO POPULAR</b>	<b>PARTE UTILIZADA</b>	<b>FORMA DE USO</b>	<b>REFERENCIA</b>
<b><i>CURATIVO DE LLAGAS SIFILÍTICAS</i></b>	Frutos (aceite)	ND	Montesano, 1913
<b><i>CURATIVO DE LLAGAS VENÉREAS</i></b>	Fruto (jugo)	Aplicación externa	Hurrell <i>et al.</i> , 2011; Lahitte <i>et al.</i> , 1998
	Fruto (aceite)	ND	Demaio <i>et al.</i> , 2015; Karlin <i>et al.</i> , 2017; Hieronymus, 1882; Ratera & Ratera, 1980
<b><i>DEPURATIVO DE LA SANGRE</i></b>	Corteza	ND	Martínez, 2007, 2015
	Hojas	Infusión	Carosio <i>et al.</i> , 2008; Demaio <i>et al.</i> , 2015; Karlin <i>et al.</i> , 2017
<b><i>DIGESTIVO/ ESTOMACAL</i></b>	Hojas frescas	Infusión	Hieronymus, 1882; Vischi & Arana, 2002
	Hojas	Infusión	Alonso & Desmarchelier, 2015; Hurrell <i>et al.</i> , 2011; Lahitte <i>et al.</i> , 1998
	Hojas	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009; Quiroga <i>et al.</i> , 2010; Toursarkissian, 1980; Trillo <i>et al.</i> , 2010
	Hojas y corteza	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009
	Hojas y tallos	ND	Verettoni, 1985
	ND	ND	Arias Toledo <i>et al.</i> , 2007, 2009; Carrizo <i>et al.</i> , 2002; Chifa & Ricciardi, 2004; Riat & Pochettino, 2015

**Tabla 3.** Continuación

<b>USO POPULAR</b>	<b>PARTE UTILIZADA</b>	<b>FORMA DE USO</b>	<b>REFERENCIA</b>
<b><i>DIGESTIVO/ ESTOMACAL</i></b>	ND	ND	Roig, 2002; Sharry <i>et al.</i> , 2011
<b><i>EN AFECCIONES DE GARGANTA</i></b>	Fruto (aceite)	ND	Verettoni, 1985
<b><i>EN AFECCIONES URINARIAS</i></b>	Hojas	ND	Romeo, 2015
<b><i>EN CÁLCULOS RENALES</i></b>	Hojas y corteza	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009
<b><i>EN ENFERMEDADES DE LA SANGRE</i></b>	Corteza	ND	Martínez, 2007
<b><i>EN ENFERMEDADES HEPÁTICAS</i></b>	Corteza y hojas	Decocción	Karlin <i>et al.</i> , 2017
<b><i>EN ENFERMEDADES HUMORALES</i></b>	Corteza	ND	Martínez, 2007
<b><i>EN ENFERMEDADES RESPIRATORIAS</i></b>	Hojas	ND	Trillo <i>et al.</i> , 2010
	ND	ND	Arias Toledo <i>et al.</i> , 2009
<b><i>EN INAPETENCIAS</i></b>	Hojas	Infusión o decocción	Martínez, 2011
<b><i>EN LLAGAS BUCALES</i></b>	Hojas y corteza	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009
<b><i>EN RESFRÍOS</i></b>	ND	ND	Arias Toledo <i>et al.</i> , 2007
<b><i>EXPECTORANTE</i></b>	ND	ND	Scarpa <i>et al.</i> , 2016
<b><i>FEBRÍFUGO</i></b>	Hojas	Infusión	Hurrell <i>et al.</i> , 2011
<b><i>HEPÁTICO/ HEPATOPROTECTOR</i></b>	Hojas	Infusión	Alonso & Desmarchelier, 2015; Hurrell <i>et al.</i> , 2011; Lahitte <i>et al.</i> , 1998

**Tabla 3.** Continuación

<b>USO POPULAR</b>	<b>PARTE UTILIZADA</b>	<b>FORMA DE USO</b>	<b>REFERENCIA</b>
<b>HEPÁTICO/ HEPATOPROTECTOR</b>	Hojas	Infusión o decocción	Martínez, 2011
	ND	ND	Chifa & Ricciardi, 2004; Raad, 2015
<b>HIPOCOLESTEROLE- MIANTE</b>	Hojas y ramas	Infusión o decocción	Carrizo <i>et al.</i> , 2005
	ND	Decocción	Riat, 2016
	ND	Infusión	Guerrero Maldonado, 2008
	ND	ND	Arias Toledo <i>et al.</i> , 2007; Riat & Pochettino, 2015
<b>HIPOTENSOR</b>	Hojas	Infusión	Hurrell <i>et al.</i> , 2011
	Hojas y corteza	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009
	ND	ND	Arias Toledo <i>et al.</i> , 2007
<b>HIPOURICOSÚRICO</b>	Hojas y ramas	Infusión o decocción	Carrizo <i>et al.</i> , 2005
<b>LAXANTE</b>	Hojas	Infusión	Montesano, 1913; Hurrell <i>et al.</i> , 2011
	Hojas y tallos	Infusión	Carosio <i>et al.</i> , 2008; Hieronymus, 1882; Vischi & Arana, 2002
<b>PARA CARCINOMAS</b>	Hojas	ND	Barboza <i>et al.</i> , 2009
<b>PARA LA CIRCULACIÓN DE LA SANGRE</b>	ND	ND	Riat & Pochettino, 2015



**Tabla 3.** Continuación

<b>USO POPULAR</b>	<b>PARTE UTILIZADA</b>	<b>FORMA DE USO</b>	<b>REFERENCIA</b>
<b><i>PARA LA TOS CONVULSA</i></b>	Hojas	Decocción	Martínez Crovetto, 2014
<b><i>PARA PICADURAS DE SERPIENTE</i></b>	Semillas (ceniza)	Aplicación externa	Filipov, 1994
	Semillas	Decocción	Filipov, 1994
<b><i>PREVENTIVO DE INFARTOS CARDÍACOS</i></b>	ND	Infusión	Guerrero Maldonado, 2008
<b><i>PECTORAL</i></b>	Hojas	Infusión	Hurrell <i>et al.</i> , 2011; Lahitte <i>et al.</i> , 1998
	ND	ND	Arias Toledo & Trillo, 2014
<b><i>TÓNICO</i></b>	ND	ND	Carrizo <i>et al.</i> , 2002
<b><i>USO DÉRMICO</i></b>	ND	ND	Chifa & Ricciardi, 2004

*Fuente.* Descripción según parte de la planta utilizada, su forma de empleo y referencia bibliográfica. (Teves,2018)

### ***Usos no Medicinales***

Los frutos son mencionados como muy dulces y empalagosos (Granada & Magariños Cervantes, 1890), comestibles (Alonso & Desmarchelier, 2015; Ratera & Ratera, 1980). La corteza se la utiliza como sahumerio (Demaio *et al.*, 2015; Karlin *et al.*, 2017). Además, se menciona su utilización en construcciones rústicas, para elaborar varas de techo de paja, yugos, ejes de carreta y para limpiar arneses de cuero crudo (Boelcke, 1989; Demaio *et al.*, 2015; Granada & Magariños Cervantes, 1890; Hieronymus, 1882; Karlin *et al.*, 2017; Lahitte *et al.*, 1999).

# Capítulo 4

### **Evaluación de la Actividad Citoprotectora Gástrica**

En este capítulo se realizan las contrastaciones para la verificación de la actividad citoprotectora gástrica de *J. rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae).

### **Bases Fisiológicas del Tracto Digestivo**

El sistema digestivo comienza en la boca, desciende por el cuello, atraviesa la cavidad torácica, abdominal y pelviana y se abre al exterior, algo debajo y delante del cóccix. En este trayecto, el sistema digestivo comprende: la boca, la faringe, el esófago, el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso. Anexo al sistema digestivo se encuentra también las glándulas salivares, el hígado, el páncreas (Tortora *et al.*2013)

El aparato digestivo se puede agrupar en dos grandes grupos, el tracto gastrointestinal y los órganos digestivos accesorios. El tracto gastrointestinal, o también llamado tubo digestivo, es un tubo continuo que se extiende desde la boca hasta el ano (Tortora *et al.*2013)

La mucosa, se subdivide en tres capas, el epitelio la primera capa, la segunda llamada lamina propia, y la tercera mucosa muscular. La mucosa muestra pliegues gruesos que se extienden de forma longitudinal y en su superficie se observan múltiples orificios, denominadas criptas, revestidas por un epitelio de células cilíndricas altas, secretoras de mucina, con núcleos basales, y gránulos pequeños agrupados y relativamente claros que contienen mucus, los que se ubican por sobre el núcleo de la célula y que cuando se secretan se transforman en el mucus que protege al epitelio de la acidez de la secreción estomacal.

En la porción más profunda de las criptas se encuentran las células mucosas del cuello, las cuales poseen un menor contenido de mucina y se cree que son las células de donde parte la diferenciación hacia células superficiales o hacia las células que forman parte de las glándulas, característica importante tomando en cuenta que la mucosa gástrica sufre un recambio total cada 2 a 6 días (Hall *et al.*, 1994). Este sistema único se mantiene por el equilibrio entre proliferación y apoptosis en las células

epiteliales gástricas, esencial para mantener la homeostasis normal, la morfología y fisiología del epitelio (Amieva y El-Omar, 2008; Zhang *et al.*, 2016).

La mucosa posee alrededor de 20 millones de glándulas las que varían dependiendo de la región del estómago en la que se encuentren:

- **Glándulas del cardias:** Contienen células secretoras de mucina y células mucosas.
- **Glándulas gástricas u oxínticas:** Se encuentran en el fondo y en el cuerpo del estómago, se dividen en tres sectores: istmo donde predominan las células mucosas; cuello, el cual posee células mucosas, regeneradoras y algunas parietales y finalmente la porción más extensa de estas glándulas, la base, en donde se encuentran células parietales, principales y escasas células mucosas.
- **Glándulas antrales o pilóricas:** Contienen células endocrinas y células secretoras de mucus.

Dentro de los principales tipos de células están:

- **Células mucosas:** forman parte de las glándulas del cardias y las glándulas antrales, las que secretan mucus y pepsinógeno II, pero las células mucosas del cuello además secretan pepsinógeno del grupo I. Estas células son cilíndricas y con núcleo basal, se asemejan a las células del epitelio superficial, pero tienen gránulos de mucina más grandes y un mayor número de ribosomas.
- **Células parietales:** en las preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina se identifican por su eosinofilia brillante. Posee invaginaciones que forman canalículos que contienen un gran número de microvellosidades.
- **Células principales:** son las encargadas de la secreción de las proenzimas proteolíticas pepsinógeno I y II, material precursor de pepsina. Poseen un citoplasma basófilo. Al ser estimuladas liberan por exocitosis el pepsinógeno desde sus gránulos secretores. Además, secretan otras enzimas, entre ellas la lipasa.
- **Células endocrinas:** tienen forma triangular con pequeños gránulos eosinófilos brillantes que se encuentran en la cara basal, pueden actuar liberando sus productos a la circulación sanguínea o al tejido local.

### Factores agresivos y Factores protectores de la Mucosa Gástrica y Duodenal

Las úlceras se definen como una lesión que penetra en la capa de la mucosa pudiendo tomar la capa muscular del estómago o duodeno formando una cavidad con inflamación aguda y crónica a su alrededor pudiendo causar sangrado digestivo alto (Camacho Mora, 2014).

Las úlceras gástricas y duodenales hoy en día son un problema global y afectan a un número importante de personas en el mundo (Da Silva Junior *et al.*, 2016; Sumbul *et al.*, 2011). Algunos autores la consideran como la “plaga” del siglo XXI (Ineu *et al.*, 2008).

La úlcera péptica es un defecto en la mucosa gastrointestinal que se extiende a través de la muscular de la mucosa y alcanza la submucosa o las capas más profundas (Thomas *et al.*, 2006). Este desorden gastrointestinal es debido a un desequilibrio entre factores que dañan la mucosa gástrica y los factores protectores (Tabla 4). (Da Silva Junior *et al.*, 2016).

**Tabla 4**

*Factores Agresivos y Protectores que pueden determinar la Patogénesis de la Úlcera.*

<b>Factores agresivos</b>	<b>Factores protectores</b>
Pepsina	Óxido nítrico (NO)
Gastrina	Grupos sulfhidrilos (GSH)
Proteasas	Gangliósidos
Radicales libres	Prostaglandinas (PG)
Isquemia	Dopamina
Leucotrienos	Mucus
Dismotilidad	Bicarbonato
Etanol (EtOH)	Superóxido dismutasa (SOD)/
Nicotina	Catalasa
Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).	Flujo sanguíneo de la mucosa
Estrés	Interleucina
<i>Helicobacter pylori</i>	Poliamida

El consumo de alcohol excesivo generalmente debilita la defensa de la mucosa gástrica e induce lesiones incluyendo gastritis y úlcera, con progreso al cáncer gástrico (Li *et al.*, 2016). Existe una etiopatogenia multifactorial en las lesiones que podrían ser debido a diferentes agentes agresivos además del alcohol, como se muestra en Tabla 4, paralelamente, también existen diversos agentes que protegen la mucosa gástrica.

Algunos de los factores involucrados en el daño son (Da Silva Junior *et al.*, 2016):

- Disminución en la producción de moco gástrico.
- Disminución en la diferencia de potencial a través de la mucosa.
- Disminución en la motilidad gástrica.
- Disminución en la producción endógena de GSH.
- Disminución en la producción de prostaglandina.
- Disminución del flujo sanguíneo de la mucosa gástrica.
- Aumento en la liberación de 5-hidroxitriptamina.
- Aumento en la liberación de histamina.
- Aumento de la salida de sodio y potasio.
- Aumento de la entrada de calcio.
- Aumento en la producción de leucotrieno.
- Aumento de la isquemia.
- Aumento de la permeabilidad vascular
- Incremento en la generación de radicales libres.
- Incremento en la difusión posterior del ácido.

El alcohol penetra rápidamente en la mucosa gástrica afectando el mucus y el flujo sanguíneo de la mucosa, causa daño en la membrana, exfoliación de células, inflamación, erosión, seguido del aumento de la permeabilidad de la mucosa, lo que permite la liberación de productos vasoactivos como mastocitos, macrófagos y otras células sanguíneas, provocando un daño vascular, necrosis y formación de úlceras (Melchiorri *et al.*, 1997; Da Silva Junior *et al.*, 2016).

## **Citoprotección**

La citoprotección es la propiedad que tienen ciertos compuestos como las prostaglandinas, para proteger varios órganos del aparato digestivo (tracto gastrointestinal, hígado y páncreas) del daño causado por agentes nocivos (Szabo y Goldberg, 1990). Robert introdujo por primera vez el término "citoprotección" en la fisiopatología y farmacología gastrointestinal para la prevención del efecto necrótico del etanol, el ácido y el álcali mediante dosis no antiselectoras de prostaglandinas.

Aunque el artículo histórico de Andre Robert sobre "citoprotección gástrica" en 1979, introdujo este nuevo nombre y concepto, los fármacos gastroprotectores (por ejemplo, sucralfato), que prevenían y/o aceleraban la cicatrización de las úlceras gástricas sin inhibir la secreción de ácido, fueron conocidos en Japón alrededor de ese tiempo. Dado que los estudios de Robert se centraron únicamente sobre las prostaglandinas (PG), se convirtieron en el centro de la investigación gastrointestinal durante más de 30 años.

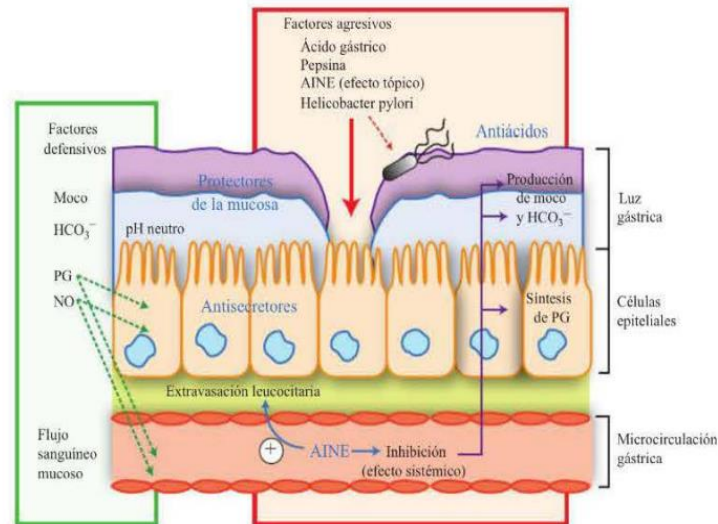
Como productos endógenos, las PG están implicadas en la mediación del efecto gastroprotector de otras drogas como sofalcona y sucralfato. Otro grupo de sustancias endógenas, los sulfhidrilos (SH), investigados en paralelo con PG, también parecen desempeñar un papel importante en el mecanismo de la gastroprotección, especialmente porque los alquilantes de los SH, como la N-etilmaleimida, contrarrestan prácticamente cualquier forma de gastroprotección. En los términos de Robert de "prevención de lesiones mucosas agudas inducidas químicamente", hasta ahora un único mecanismo no podría explicar los efectos beneficiosos de diversos agentes protectores. Szabo argumenta que estas dos sustancias endógenas, es decir: PG y SH, además de la histamina, son las principales mediadoras en el mecanismo de la gastroprotección aguda: PG e histamina, porque como mediadores de la inflamación aguda, aumentan la permeabilidad vascular (VP) y los SH eliminan los radicales libres (Szabo, 2014).

El fenómeno citoprotección ha sido estudiado principalmente en el tracto gastrointestinal, particularmente en el estómago de rata, donde se han identificado dos tipos de citoprotección, una directa y otra adaptativa (Konturek, 1990).

Desde un punto de vista conceptual los mecanismos de defensa se pueden clasificar a nivel preepitelial, epitelial y postepitelial.

### Figura 5

#### Factores Agresivos y Defensivos de la Mucosa Gástrica.



**Figura 34-1.** Factores agresivos y defensivos de la mucosa gástrica. Lugar de acción de los distintos grupos farmacológicos utilizados en el tratamiento de las enfermedades relacionadas con el ácido. AINE: antiinflamatorios no esteroideos; NO: óxido nítrico; PG: prostaglandina.

*Nota.* Figura tomada de Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 19ª Edición (2019)

Estos niveles son responsables de la integridad de la mucosa, a través de factores funcionales, humorales y neuronales, siendo ellos: la producción de mucus, la secreción de bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), secreción de lípidos, el flujo sanguíneo local, como factores funcionales, la renovación celular y la producción de óxido nítrico (NO) y de determinadas prostaglandinas (Repetto y Llesuy, 2002), los cuales constituyen los factores humorales. El déficit de alguno de estos factores, cualquiera que sea la razón, puede facilitar el daño de la mucosa del estómago, aun cuando los niveles de agentes nocivos no se encuentren aumentados (Figura 5).

### Factores funcionales

La motilidad juega un papel importante en la prevención de las lesiones provocadas por estrés, así como por los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Las altas amplitudes de las contracciones y la restricción temporal del flujo sanguíneo de la mucosa provocadas por los AINEs reducen la resistencia de la mucosa



gástrica. La hipermotilidad inducida por los AINEs está relacionada con una deficiencia de prostaglandinas causada por la inhibición de la ciclooxigenasa 1 (COX<sub>1</sub>), lo que sugiere que las prostaglandinas provenientes de la COX<sub>1</sub> participan de manera importante en la reducción de la motilidad gástrica lo que se traduce en una protección para la mucosa gástrica (Tanaka *et al.*, 2001).

La producción y secreción de ácido en el estómago cumplen una serie de funciones fisiológicas y defensivas, ya que permiten la destrucción de microorganismos presentes en los alimentos, activan la pepsina, enzima que requiere de un pH ácido (entre 1.8 a 3.5) para iniciar la digestión de las proteínas; además contribuyen químicamente a la desintegración de los alimentos para facilitar su absorción en la mucosa intestinal. Esta secreción ácida gástrica se puede producir por una variedad de factores, relacionados con la ingesta de alimento y el estado calórico del individuo. La secreción ácida está regulada por diversos mecanismos nerviosos y hormonales, que han permitido distinguir en ella tres fases: cefálica, gástrica e intestinal.

En la fase cefálica están involucrados mecanismos regulatorios del sistema nervioso central (hipotálamo y bulbo raquídeo) mediados por el nervio vago, mientras que, en la fase gástrica e intestinal, están involucrados mecanismos periféricos, a través de impulsos vagales, que incluyen elementos neuronales, hormonales, paracrinos y autocrinos.

Se ha demostrado que existe un incremento en el flujo sanguíneo de la mucosa gástrica después de un tratamiento con irritantes suaves. La administración previa de un inhibidor inespecífico del óxido nítrico sintasa (NOS) tal como el N-nitro-Larginina metil éster (L-NAME) da como resultado un empeoramiento de las lesiones provocadas por irritantes, lo que sugiere que la microcirculación tiene un papel muy importante en la protección de la mucosa gástrica (Helmer *et al.*, 2002).

### **Factores humorales**

La importancia de las prostaglandinas endógenas en la modulación de los mecanismos de defensa de la mucosa se hace evidente por diversas observaciones que apuntan a que los analgésicos no esteroideos que son potentes inhibidores de la

síntesis de prostaglandinas son capaces de dañar la mucosa gástrica. La generación local de prostaglandinas en la mucosa gástrica es considerada como la responsable de la adaptación de la mucosa al ataque de los agentes irritantes (Robert *et al.*, 1979). Debido a que las prostaglandinas incrementan el flujo sanguíneo en la mucosa gástrica se ha sugerido que el efecto citoprotector se debe, en parte, a respuestas vasculares ante la presencia de agentes nocivos para la mucosa. Al respecto, se sabe que las prostaglandinas además son capaces de estimular la secreción de moco y bicarbonato, y de esta forma incrementar el pH en el epitelio gastroduodenal. También, las prostaglandinas reducen la secreción de ácido e incrementan la capa de los fosfolípidos. Estudios microscópicos han revelado que el mayor impacto citoprotector de las prostaglandinas es a nivel de la submucosa (Atay *et al.*, 2000).

Por otro lado, Ng -nitro-L-arginina (L-NNA) y el L-NAME inhiben la acción citoprotectora, por lo que se considera que el NO tiene un papel muy importante en el mantenimiento de la integridad de la mucosa, ya sea provocando vasorrelajación o promoviendo la síntesis de prostaglandinas (Tsukimi y Okabe, 2001).

El mecanismo por el cual NO activa la COX permanece aún indefinido, las posibilidades son: 1) efecto antioxidante: el anión superóxido ( $O_2^-$ ) es generado durante la activación de la COX, se ha postulado que está involucrado en una autoinactivación de la enzima COX. El NO interactúa con el  $O_2^-$  y limita las cantidades necesarias del radical para generar la auto-inactivación. 2) formación de nitrosotioles: el NO nitrosila residuos de cisteína en el dominio catalítico de la COX, la formación de los nitrosotioles, pueden provocar un cambio en la estructura de la enzima lo que da como resultado un incremento en la eficacia catalítica de la enzima. 3) generación de peroxinitritos: cuando la cantidad de NO y  $O_2^-$  interactúan y forman la molécula citotóxica peroxinitrito que al descomponerse genera el  $OH^\cdot$  el cual interactúa con la COX y provoca un cambio conformacional en la enzima, dando como resultado final un incremento en la actividad catalítica de la COX (Salvemini, 1997).

### **Factores neuronales**

Existe una influencia significativa de las terminaciones del nervio vago y del plexo intramural del tracto digestivo. Las terminaciones nerviosas en el estómago

liberan acetilcolina y péptido liberador de gastrina. La acción de ambas es directa sobre la célula parietal y mediada a través de la secreción de gastrina por las células G y de histamina por las células enterocromafines 2.

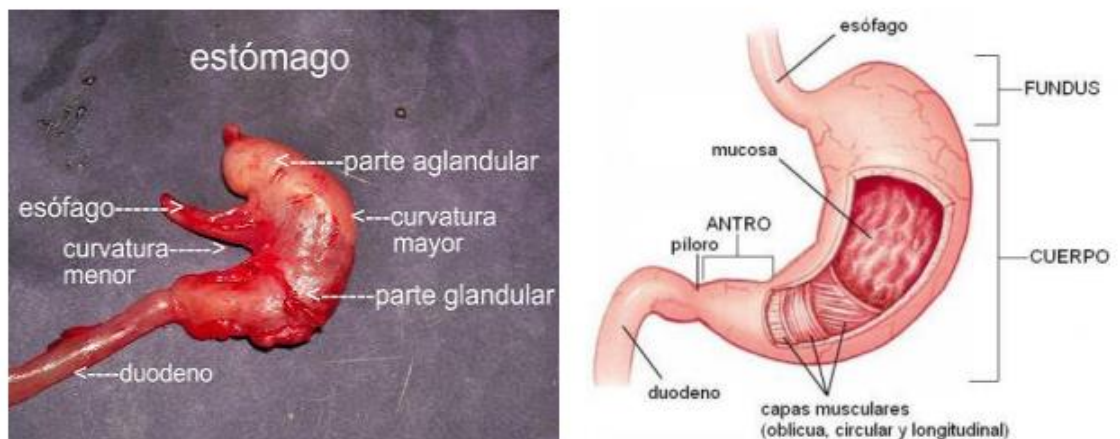
### **Modelos experimentales de inducción de úlceras: anatomía del estómago de rata y ratón**

El estómago es la parte dilatada del tubo digestivo comprendida entre el esófago y el intestino delgado. Como puede observarse el estómago se divide en tres partes, denominadas como fundus, corpus (cuerpo), y el antro (Figura 6).

El fundus es la sección del estómago, que está formada por la curvatura mayor. El cuerpo (corpus) constituye la principal región central del órgano, y el píloro, junto con el antro constituye la última parte que vacía el contenido del estómago al duodeno (Cook, 1965).

#### **Figura 6**

*Regiones del Estómago de Rata y Ratón*



*Nota.* Configuración del estómago. Universidad de Ciencias Veterinarias UBA.2009

En general, los experimentos preclínicos deben realizarse *in vivo* y apoyarse, cuando sea posible, con estudios *in vitro* para explorar los mecanismos de acción de los fármacos candidatos con actividad citoprotectora.

Las úlceras pépticas pueden ser inducidas por manipulaciones fisiológicas, farmacológicas o quirúrgicas en varias especies animales. Sin embargo, los experimentos más avanzados se realizan en roedores.

Todos los modelos animales *in vivo* pueden usarse para investigar las propiedades preventivas o curativas de medicamentos o fármacos dependiendo del momento de inducción de la úlcera péptica. Para estudios preventivos, es aconsejable pretratar los animales durante al menos dos semanas antes de administrar el agente ulcerogénico para inducir la úlcera péptica, luego se miden las úlceras con el índice adecuado para determinar el grado de prevención que se alcance. En el caso de los modelos curativos, posterior a la inducción de las úlceras, los animales son tratados durante por lo menos dos semanas seguidas, midiendo las úlceras con el índice apropiado para determinar el grado de curación de las úlceras. Al emplear estos modelos, es aconsejable decidir sobre un diseño experimental apropiado. Recomiendan que, para los estudios, se utilicen en un mínimo de seis animales por cada grupo (Buenor Adinortey *et al.*, 2013).

### **Método de cuantificación de úlceras**

Existen varios métodos para cuantificar macroscópicamente el tamaño de las úlceras, entre estos tenemos, los cuantitativos no sistemáticos como lo son la suma de las longitudes de las lesiones o el índice de úlcera en el cual se multiplica el largo por el ancho para obtener su área. Como puede apreciarse, el problema de estos métodos es que debido a las formas irregulares que presentan las úlceras, hay áreas que se pierden. También existen los métodos sistemáticos, en los cuales las muestras son colocadas en una lámina cuadrículada, midiendo así su tamaño, ya sea a simple vista o con un microscopio o estereoscopio, las desventajas de estos métodos son que, si bien se obtiene una mejor cuantificación del área, toman mucho tiempo, y en el caso del que emplea un estereoscopio, queda fuera del alcance de los laboratorios pequeños (Khan, 2004).

Otro método innovador es el propuesto por Khan (2004). Después de la evaluación macroscópica, las muestras se colocan entre dos láminas de plástico transparente, presionando cuidadosamente. Posteriormente se escanean para luego ser

analizadas utilizando un programa desarrollado por el Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos de América (NIH). En resumen, la imagen escaneada se convierte en escala de grises, se registra el área de la mucosa total, se resta el área sin lesión y se mide el área de la lesión gástrica (12 píxeles= 1 mm) (Sibila *et al.*, 2007). Este método ofrece la ventaja de tener muy bajo costo y una alta eficacia para determinar el área afectada, por muy pequeñas que sean las lesiones.

### **Posibilidades de intervención farmacológica**

El tratamiento de las lesiones mucosas está centrado en la inhibición de la producción del HCl con los inhibidores de la bomba de protones (IBP).

En función de los mecanismos, la acción farmacológica se clasifica de la siguiente manera (Esplugues y Martí-Cabrera, 2014):

- Inhibidores de la secreción ácida: IBP, antihistamínicos H2.
- Neutralizantes de la secreción ácida: antiácidos.
- Protectores de la mucosa: sales de bismuto coloidal, sucralfato, análogos de las prostaglandinas.
- Tratamiento erradicador de *H. pylori*.

### **Terapéutica de la úlcera gástrica**

Los tratamientos farmacológicos para tratar la úlcera péptica se basan en la restauración del desequilibrio, a fin de reducir y/o inhibir en el estómago, la secreción ácida y pepsina, favoreciendo o promoviendo los mecanismos protectores de la mucosa gástrica, aumentando, por ejemplo, la secreción de mucus, bicarbonato y el flujo sanguíneo, que permite reforzar la mucosa y facilitar su cicatrización (Tabla 5). (Esplugues y Martí-Cabrera, 2014).

La carbenoxolona es un antiinflamatorio y citoprotector y su mecanismo de acción está relacionado con el aumento de prostaglandinas, por el cual estimula la producción de moco a nivel local. Es utilizado para el tratamiento de las úlceras del tracto digestivo, especialmente en el estómago. (Alvarado Alva, 2003)

**Tabla 5***Principales Fármacos Empleados en el Tratamiento de Ulcera Gástrica*

<b>MECANISMO DE ACCIÓN</b>	<b>FÁRMACOS</b>	
<b>Inhibidores de la acidez gástrica</b>	Antiácidos	Bicarbonato sódico, Carbonato cálcico, Hidróxido de aluminio, Hidróxido de magnesio, Almagato, Magaldrato
<b>Inhibidores de la secreción ácida gástrica</b>	Antagonistas de receptores H <sub>2</sub> de histamina	Cimetidina, Famotidina, Nizatidina, Roxatidina
	Antagonistas de receptores muscarínicos	Anticolinérgicos, Pirenzepina
	Inhibidores de la H <sup>+</sup> K <sup>+</sup> atpasa	Omeprazol, Lansoprazol, Pantoprazol, Rabeprazol
	Agonistas de los receptores de la somatostatina	Análogos de la somatostatina
<b>Fármacos con efecto antisecretor y protector de la mucosa gástrica</b>	Prostaglandinas y análogos	Prostaglandinas PGE1 y PGE2, Misoprostol, Emprostil, Arbaprostil, Acexamato de cinc
<b>Fármacos con efecto protector sobre la mucosa gastroduodenal</b>		Sucralfato, Carbenoxolona, Sales de bismuto coloidal

*Fuente.* Alvarado Alva JC. Manual de farmacología; 2017

### **Tratamiento alternativo: uso de plantas medicinales**

El uso de las plantas medicinales se remonta a tiempos remotos, ya que en ellas se encontraban alivio para diversas dolencias y curación de varias enfermedades, el hombre aprendió a buscar drogas en la corteza, frutas, semillas, y diversas partes de plantas. El conocimiento de las plantas medicinales se desarrolla junto con la evolución del progreso social y científico. El aumento de la prevalencia de patologías gastro enterales en la población y la necesidad de disminuir los signos y síntomas que estas enfermedades producen, han sido un gran desafío para el desarrollo de nuevos medicamentos seguros para la población, estudiándose también, alternativas naturales que ayuden a curar o prevenir el desarrollo de esta patología y sus efectos.

Durante los últimos años ha ido creciendo el interés en terapias alternativas y el uso de productos naturales, especialmente derivados de plantas, ya que son fuentes atractivas de nuevas sustancias que permitan el desarrollo de fármacos alternativos para el tratamiento de úlceras gástricas. La lista de compuestos de origen natural que se usan en la medicina tradicional de varios países por poseer actividad gastroprotectora es amplia. Entre los compuestos estudiados, que poseen actividad sobre la úlcera gástrica o duodenal se encuentran flavonoides, triterpenos, diterpenos, alcaloides y glicósidos (Repetto y Llesuy, 2002). La mayoría de los compuestos gastroprotectores de origen natural ejercen su acción mejorando o favoreciendo los mecanismos de defensa de la mucosa gástrica, por ejemplo, aumentando la secreción de mucus o el nivel de prostaglandinas.

Actualmente, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 80% de la población mundial recurre a la medicina tradicional para atender sus necesidades primarias de asistencia médica (Rashid *et al.*, 2016). La terapéutica tradicional se basa sobre todo en el empleo de extractos o principios activos de las plantas. Los estudios de la OMS muestran que son muchas las personas que utilizan plantas medicinales, además nos muestra que los países desarrollados también dan uso a principios activos procedentes de plantas. Se han reportado trabajos etnofarmacológicos sobre la medicina popular en Argentina, en los cuales se informa que un número diverso de especies de plantas poseen propiedades para el tratamiento de patologías del tracto digestivo, entre las especies más relevantes se encuentran: *Parkinsonia praecox* (Ruiz

& Pav.) Hawkins (Fabaceae), *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek (Celastraceae), *Lepidium didymum* L. (Brassicaceae), *Gentianella multicaulis* (Gillies ex Griseb.) Fabris (Gentianaceae), *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (Amaranthaceae), *Clinopodium odorum* (Griseb.) Harley (Lamiaceae), *Clinopodium gilliesii* Kuntze (Lamiaceae), *Bidens pilosa* L. (Asteraceae), *Artemisia douglasiana* Besser (Asteraceae), *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae), *Aloe vera* (L.) Burm.f. (Asphodelaceae), *Picrasma crenata* Engl. (Simaroubaceae), *Buddleja globosa* Hope (Scrophulariaceae), *Alternanthera pungens* Kunth (Amaranthaceae), *Plantago major* L. (Plantaginaceae), *Erigeron bonariensis* L. (Asteraceae), *Capparis atamisquea* Kuntze (Capparaceae), entre otras (Teves *et al.*, 2015c). El efecto gastroprotector fue determinado a través de modelos de bioensayos usados para probar extractos de plantas contra las úlceras, en donde se usan HCl/EtOH, EtOH, indometacina, y ligadura del píloro como agentes inductores de lesiones gástricas (Falcão *et al.*, 2008).

### Fase Experimental

**Primera contrastación empírica:** Determinación de la actividad citoprotectora gástrica de *Jodina rhombifolia* utilizando diferentes concentraciones

De acuerdo al protocolo comienza con la recolección, identificación y conservación del material vegetal.

Las hojas de *J. rhombifolia*, fueron recolectadas en la provincia de San Luis, en el Departamento “Coronel Pringles”, localidad “Fraga”, establecimiento "Los Chañares", distante a aproximadamente 5 Km del casco urbano, siguiendo las directrices emanadas de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2003). Estos órganos vegetativos fueron recolectados en etapas previas a la floración de la planta, seleccionándose aquellos ejemplares adultos que estuviesen distantes de sembradíos, zanjas de drenaje, zonas de pastoreo y carreteras; se tuvo en cuenta además la hora de recolección del material vegetal, sucediéndose siempre en horas cercanas al mediodía.

Una muestra documental de la especie fue depositada en el Herbario de la Universidad Nacional de San Luis (Acrónimo: UNSL), San Luis, Argentina, bajo el registro No. 517. Para ello, fueron recolectados y herborizados tres ejemplares que



presentasen órganos reproductivos, los que posteriormente, se prepararon y acondicionaron para su conservación. La identificación botánica de la especie vegetal se realizó mediante la aplicación de métodos taxonómicos clásicos y luego certificada por la Dra. Marta Elena. Petenatti (Herbario UNSL). La recolección de material vegetal desde su hábitat fue aprobada por el jefe del Programa "Biodiversidad", perteneciente al Ministerio de Medio Ambiente del Gobierno de la provincia de San Luis, según Resolución N° 588-PBD-2014.

Obtención de la infusión de *J. rhombifolia*: las hojas recolectadas se sometieron a una desecación al aire libre, a temperatura ambiente, y a la sombra, por un período de aproximadamente tres semanas, hasta llegar a un peso constante. Con el material vegetal desecado, se procedió a su molienda a polvo medianamente fino con ayuda de un molinillo a cuchillas. La infusión en proporción 1:10, fue obtenida según especificaciones de la Farmacopea Nacional Argentina; para ello, se adicionó el agua destilada hirviendo sobre el material vegetal pulverizado, dejándose reposar a temperatura ambiente por un lapso de veinte minutos. El material vegetal agotado fue separado por filtración; extracto acuoso obtenido fue concentrado y liofilizado para preservarlo.

Animales de experimentación: se utilizaron ratas Wistar de 150 a 250 g de peso de ambos sexos, suministrados por el Bioterio Central de la UNSL. Los animales fueron alojados en cajas y jaulas estándar apropiadas con un lecho de viruta de madera esterilizada, libre acceso al alimento y al agua, ciclo día-noche de doce horas (iluminación desde la hora 07:00 a 19:00 h), a una temperatura 22-24°C, y a una humedad relativa de 50-60%.

Los protocolos de actividades de investigación fueron realizados de acuerdo con la reglamentación del ANMAT N° 6344/96. Los protocolos de experimentación con animales fueron aprobados por el CICUA (Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales) de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la UNSL, bajo estricto protocolo (Ver anexo).

### Determinación de actividad citoprotectora gástrica

Se utilizó el método descrito por Robert *et al*, (1979). Los animales se mantuvieron en ayunas durante las 24 h previas a la experimentación y con libre acceso al agua. Los animales fueron agrupados en tres (3) lotes ( $n = 6$  a  $8$  para cada lote), recibieron diferentes concentraciones como pretratamiento, del extracto acuoso del liofilizado de hojas de *J. rhombifolia* (250 mg/kg, 500 mg/kg y 1000 mg/kg de peso). En forma paralela, se estableció un grupo control negativo al que se le administró solución salina y un grupo control positivo recibió Carbenoxolona en dosis de 250 mg/Kg.

**Tabla 6**

*Determinación de la Capacidad Citoprotectora Gástrica de J. rhombifolia*

Lote	Pretratamiento	Tiempo	Tratamiento	Procedimiento posterior
<b>Lote I:</b> control de daño.	Solución fisiológica (1ml/200 g)	1 h. después	1 ml EtOH	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote II:</b> control de protección	Carbenoxolona (250 mg/kg)	1 h. después	1 ml EtOH	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote III</b>	<i>J.r.</i> 250 mg/kg (1 ml)	1 h. después	1ml EtOH	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote IV</b>	<i>J.r.</i> 500 mg/k (1 ml)	1 h. después	1 ml EtOH	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote V</b>	<i>J.r.</i> 1000 mg/k (1 ml)	1 h. después	1 ml EtOH	Eutanización (1 h. después)

*Nota.* Se ha utilizado diferentes dosis de *J. rhombifolia* (*J.r.*) frente al modelo de lesiones gástricas inducidas por el etanol (EtOH)  $n= 6-8$  animales

El extracto vegetal se administró por vía oral mediante sonda orogástrica (Tabla 6). Luego de una hora se administró el agente necrosante (etanol absoluto) y una hora después los animales fueron eutanizados, removiéndose el estómago y abriéndose por su curvatura mayor. Los estómagos abiertos fueron fotografiados y en las imágenes

digitales se evaluó el grado de erosión de la mucosa utilizando el procesador de imágenes Image J (NIH). Los lotes I y II correspondieron a grupos control.

Protocolo F-348/20: estudio de la actividad citoprotectora gástrica de *Jodina rhombifolia* en rata. Resolución N° 99/21

**Segunda contrastación empírica:** Lesiones gástricas inducidas por otros agentes necrosantes NaOH 0,2 N (hidróxido de sodio), HCl 0,6 N (ácido clorhídrico), y NaCl 25% (Cloruro de sodio).

**Tabla 7**

*Determinación de la Actividad Citoprotectora Gástrica en Ratas Ambos Sexos Pretratadas con Diferentes Concentraciones del Extracto Acuoso con 1000 mg de J. rhombifolia*

Lote	Pretratamiento	Tiempo	Tratamiento	Procedimiento posterior
<b>Lote IV</b> Control de daño	1 ml de solución fisiológica	1 h. después	1 ml de NaOH 0.2 N	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote V</b> Control de daño	1 ml de solución fisiológica	1 h después	1ml HCl 0.6 N	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote VI</b> Control de daño	1 ml de solución fisiológica	1 h después	1 ml Na Cl 25%	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote VII</b>	1000 mg/kg de <i>J. rhombifolia</i> (1 ml)	1 h. después	1 ml de NaOH 0.2 N	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote VIII</b>	1000 mg/kg de <i>J. rhombifolia</i> (1 ml)	1 h. después	1 ml de HCl 0,6 N	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote IX</b>	1000 mg/kg de <i>J. rhombifolia</i> (1 ml)	1 h. después	1 ml de Na Cl 25%	Eutanización (1 h. después)

*Nota.* Se administró diferentes agentes necrosantes (NaOH 0.2, HCl 0.6, NaCl 25%)  $n=$  de 6 a 8 en ratas de ambos sexos pretratados con *J. rhombifolia* (1000 mg/Kg)

Las lesiones fueron inducidas de acuerdo al método descrito por Robert *et al.* (1979), por la administración intragástrica (vía oral) de 1 ml de diferentes agentes ulcerogénico.

Se administró por vía oral 1 ml de Solución Fisiológica en el lote IV, V, y VI como grupo control negativo, una hora después NaOH 0.2 N, HCl 0.6 N, y NaCl 25% (Tabla 6).

En el lote VII, VIII, IX, se administró el extracto liofilizado de *J. rhombifolia* en dosis de 1000 mg/kg. Pasada una hora, los agentes necrosantes: hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, etanol absoluto y respectivamente (Tabla 7).

Protocolo F-357/21: Determinación de la actividad citoprotectora gástrica de *J. rhombifolia* frente a diversos agentes necrosantes. Resolución N<sup>a</sup> 100/21

El extracto acuoso de *J. rhombifolia* se administró a los diferentes lotes de ratas macho Wistar (200 g), cada uno de seis a ocho animales, 1 hora antes de administrar el agente necrosante. Después de 60 minutos, los animales fueron eutanizados con CO<sup>2</sup>. Luego se procedió a extirpar el estómago, y se realizó una incisión por la curvatura mayor. El área dañada (mm<sup>2</sup>) se analizó con el programa analizador de imágenes ImageJ (NIH).

Para el presente procedimiento se repitió protocolo de recolección, identificación y conservación del material vegetal y obtención de la infusión de *J. rhombifolia*. Los animales al igual que en la contrastación empírica anterior se mantuvieron en ayunas y con libre acceso de agua, fueron agrupados en lotes de 6 a 8 ratas.

**Tercera contrastación empírica:** Determinación de la actividad citoprotectora gastroduodenal en rata

Para esta contrastación se basó el experimento en el método descrito por Melchiorri *et al.* (1997). Las ratas (150-200 g; seis a ocho animales por lote) se mantuvieron en ayunas durante 24 horas antes del experimento.

Los animales fueron agrupados en lotes (Tabla 8), recibieron la solución liofilizada de *J. rhombifolia* en dosis de 1000 mg/kg. Se procedió a ligar el duodeno a una distancia de 2 cm desde el píloro; para ello fue necesario anestesiarse con

ketamina/xilacina (Ketamina 60 mg/ml + xilacina 8 mg/ml) en dosis de 0.2 ml/250 g. por vía subcutánea.

La ketamina es un anestésico que produce una anestesia denominada disociativa. En los animales de laboratorio son muy frecuentes las combinaciones de ketamina con xilacina para producir una anestesia quirúrgica. La xilacina es un agonista  $\alpha_2$ -adrenérgico, potente sedante y analgésico no narcótico, que produce un corto periodo de analgesia, así como un efectivo relajante muscular. (Fernández *et al.*, 2018)

**Tabla 8**

*Determinación de la Actividad Citoprotectora Gastroduodenal de J. Rhombifolia*

Lote	Anestesia	Pretratamiento	Tiempo	Trata- miento	Procedi- miento posterior	
Lote X Control de daño	ketamina/ xilacina (s/c)	Liga el duodeno a 2 cm del píloro	1 ml Sol. Fisiológ (v.o.)	1 h. después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)
Lote XI	ketamina/ xilacina (s/c)	Liga el duodeno a 2 cm del píloro	1000 mg/k de <i>J.r.</i> (1 ml) (v.o.)	1 h. después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)

*Nota.* Se administró etanol en ratas ambos sexos con 1000 mg de *J. rhombifolia* (*J.r.*), *n*=de 6 a 8

Los animales fueron agrupados en lotes, que recibieron los siguientes tratamientos:

- **Lote X:** solución fisiológica (1 ml, vía oral). EtOH absoluto (1 ml., vía oral).
- **Lote XI:** Etanol (EtOH) absoluto (1 ml., vía oral); extracto acuoso liofilizado de las hojas de *J. rhombifolia* (1 ml., vía oral).

Una hora después de la administración, los animales fueron eutanizados con CO<sub>2</sub> y se evaluó el grado de erosión, informando los resultados en mm<sup>2</sup>.

Protocolo F-358/21: Estudio de la actividad citoprotectora gastroduodenal de *Jodina rhombifolia*. Resolución N<sup>o</sup> 100/21

**Cuarta contrastación empírica:** Determinación del mecanismo de acción en la actividad gastroprotectora mediante la participación de las prostaglandinas

Se emplearon ratas Wistar (150-200 g, seis a ocho animales por lote), de ambos sexos, con ayuno de 24 horas. En el lote I como control de daño se realizó la administración de Indometacina por vía intraperitoneal (I.P.) en una dosis de 10 mg/kg, 0,2 ml, suspendida en solución fisiológica. Dicha dosis produce inhibición de prostaglandinas sin ser ulcerogénica (María *et al.*, 1998).

La Indometacina pertenece al grupo de antiinflamatorios no esteroideos (AINE), se utiliza para aliviar el dolor moderado a intenso, se usa en el tratamiento de la inflamación y la rigidez producida por osteoartritis en general. Al igual que otros AINEs, es un inhibidor potente de la síntesis de prostaglandinas, y se ha demostrado que en concentraciones terapéuticas tienen un efecto *in vivo* (MedlinePlus, 2007).

Siguiendo con la determinación, luego de 30 minutos se administró etanol y 1 hora después se procedió a remover el estómago y se cuantificó el daño (milímetro cuadrado) (Tabla 9)

En el lote II: se omitió el paso de la Indometacina y se eutanizó a la hora del procedimiento. En el lote III: como primer paso se administró Indometacina por vía intraperitoneal (I.P) en una dosis de 10 mg/kg, 0,2 ml, suspendida en solución fisiológica (Tabla 8). Dicha dosis produce inhibición de prostaglandinas sin ser ulcerogénica (María *et al.*, 1998). En un segundo paso, 30 minutos después los animales recibieron la infusión de *J. rhombifolia* en 1000 mg/Kg por vía oro gástrica. Seguidamente, en un tercer paso, se administró pasado una hora después, 1 ml de EtOH como agente necrosante mediante vía oral. Luego 60 minutos después del etanol fueron eutanizados.

Con el lote IV se procedió a administrar la *J. rhombifolia* en dosis de 1000 mg/kg y una hora después como en los lotes anteriores se eutanizaron y midieron el daño.

**Tabla 9**

*Determinación del Mecanismo de Acción en la Actividad Citoprotectora Gastroduodenal Mediante la Participación de las Prostaglandinas*

<b>Lote</b>	<b>Pretrata- miento</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Trata- miento</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Trata- miento</b>	<b>Procedi- miento posterior</b>
<b>Lote I</b> Control de daño	0,2 ml Indome- tacina 10 mg/kg (i.p.)	30 min. después	1 ml de sol. Fisiológica	1 hora después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote II</b> Control de daño	-	-	1 ml de sol. Fisiológica	1 hora después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote III</b>	0,2 ml Indome- tacina 10 mg/kg (i.p.)	30 min. después	1000 mg/kg de <i>J.r.</i> (1 ml)	1 hora después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote IV</b>	-	-	1000 mg/kg de <i>J.r.</i> (1 ml)	1 hora después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)

*Nota.* Se administró etanol en ratas ambos sexos con 1000 mg de *J. rhombifolia* (*J.r.*),  
n=de 6 a 8

Protocolo F-360/21: Estudio del mecanismo de acción en la actividad citoprotectora gástrica de *J. rhombifolia*. Resolución N° 100/21

**Quinta contrastación empírica:** Determinación del mecanismo de acción en la actividad gastroprotectora mediante la participación de los grupos sulfhidrílos

**Tabla 10**

*Determinación del Mecanismo de Acción en la Actividad Citoprotectora Gastroduodenal Mediante la Participación de los Grupos Sulfhidrilos*

<b>Lote</b>	<b>Pretrata miento</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Trata- miento</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Trata- miento</b>	<b>Procedi- miento posterior</b>
<b>Lote I</b> Control de daño	NEM 10 mg/kg (s.c.)	30 min. después	1 ml de sol. Fisiológica	1 hora después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote II</b> Control de daño	-	-	1 ml de sol. Fisiológica	1 hora después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote III</b>	NEM 10 mg/kg (s.c.)	30 min. después	1000 mg/kg de <i>J.r.</i> (1 ml)	1 hora después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote IV</b>	-	-	1000 mg/kg de <i>J.r.</i> (1 ml)	1 hora después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)

*Nota.* Se administró etanol en ratas ambos sexos con 1000 mg de *J. rhombifolia* (*J.r.*), n=de 6 a 8 en ratas macho y hembras, pretratadas con N-etilmaleimida (NEM, s.c.)



Se emplearon ratas Wistar de ambos sexos (150-200 gramos, de seis a ocho animales por lote), con ayuno de 24 horas. Para investigar la participación de los grupos sulfhidrilos endógenos en el efecto protector de la infusión (Tabla 9).

En el lote I y III se utilizó un bloqueante de estos, N-etilmaleimida (NEM, 10 mg/kg, disuelta en 5 ml de solución fisiológica por vía subcutánea), en el lote III, se administró 30 minutos previos a la administración del extracto acuoso de *Jodina rhombifolia* (*J.r.* 1000 mg/kg, p.o.) (Oka *et al.*, 1990). Luego de 1 hora se administró el EtOH, como agente necrosante. Los animales fueron eutanizados con CO<sub>2</sub>, 60 minutos posteriores a la administración del agente necrosante, sus estómagos fueron removidos y se evaluó el grado de erosión.

Protocolo F-360/21: Estudio del mecanismo de acción en la actividad citoprotectora gástrica de *J. rhombifolia*. Resolución N° 100/21

**Sexta contrastación empírica:** Determinación del mecanismo de acción en la actividad gastroprotectora mediante la participación del óxido nítrico

Las lesiones gástricas fueron producidas de acuerdo al método de Robert *et al.* (1979), empleando como modelo experimental de úlcera al agente necrosante Etanol absoluto (EtOH). Se emplearon ratas Wistar de ambos sexos (150-200 g; seis a ocho animales por lote), con ayuno de 24 horas.

Para investigar la participación del NO (óxido nítrico) endógeno en el efecto protector del extracto acuoso de *J. rhombifolia* 1000 mg/kg (Tabla 11), se administró a través de vía intraperitoneal, como inhibidor del NO, NG-nitro-L-arginina (L-NNA, 40 mg/kg), disuelto en 5 ml de solución fisiológica 15 minutos previos a la administración de la infusión, (Matsuda *et al.*, 1999). Luego de 1 hora se administró el EtOH (1 ml, vía oral). A los 60 minutos los animales fueron eutanizados con CO<sub>2</sub>, sus estómagos fueron removidos y se evaluó el grado de erosión (María *et al.*, 1998).

Protocolo F-360/21: Estudio del mecanismo de acción en la actividad citoprotectora gástrica de *Jodina rhombifolia*. Resolución N° 100/21

**Tabla 11**

*Determinación del Mecanismo de Acción en la Actividad Citoprotectora Gastroduodenal Mediante la Participación del Óxido Nítrico.*

<b>Lote</b>	<b>Pretrata- miento</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Trata- miento</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Trata- miento</b>	<b>Procedi- miento posterior</b>
<b>Lote I</b> Control de daño	L-NNA 40 mg/kg (i.p.)	30 min. después	1 ml de sol. Fisiológica	1 hora después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote II</b> Control de daño	-	-	1 ml de sol. Fisiológica	1 hora después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote III</b>	L-NNA 40 mg/kg (i.p.)	30 min. después	1000 mg/kg de <i>J.r.</i> (1 ml)	1 hora después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)
<b>Lote IV</b>	-	-	1000 mg/kg de <i>J.r.</i> (1 ml)	1 hora después	1 ml de EtOH (v.o.)	Eutanización (1 h. después)

*Nota.* Se administró etanol en ratas ambos sexos con 1000 mg de *J. rhombifolia* (*J.r.*),  $n$ =de 6 a 8 en ratas macho y hembras, pretratadas con NG-nitro-L-arginina (L-NNA, i.p.)

## Resultados

Los resultados se expresaron como media  $\pm$  S.E.M. y la significación estadística de las diferencias entre grupos se calculó utilizando: el test  $t$  de Student. Se utilizó el programa Graph Pad Prism para realizar el tratamiento estadístico de los resultados.

**Resultado primera contrastación empírica:** se analizó la actividad citoprotectora gástrica del extracto acuoso de *J. rhombifolia*.

**Tabla 12**

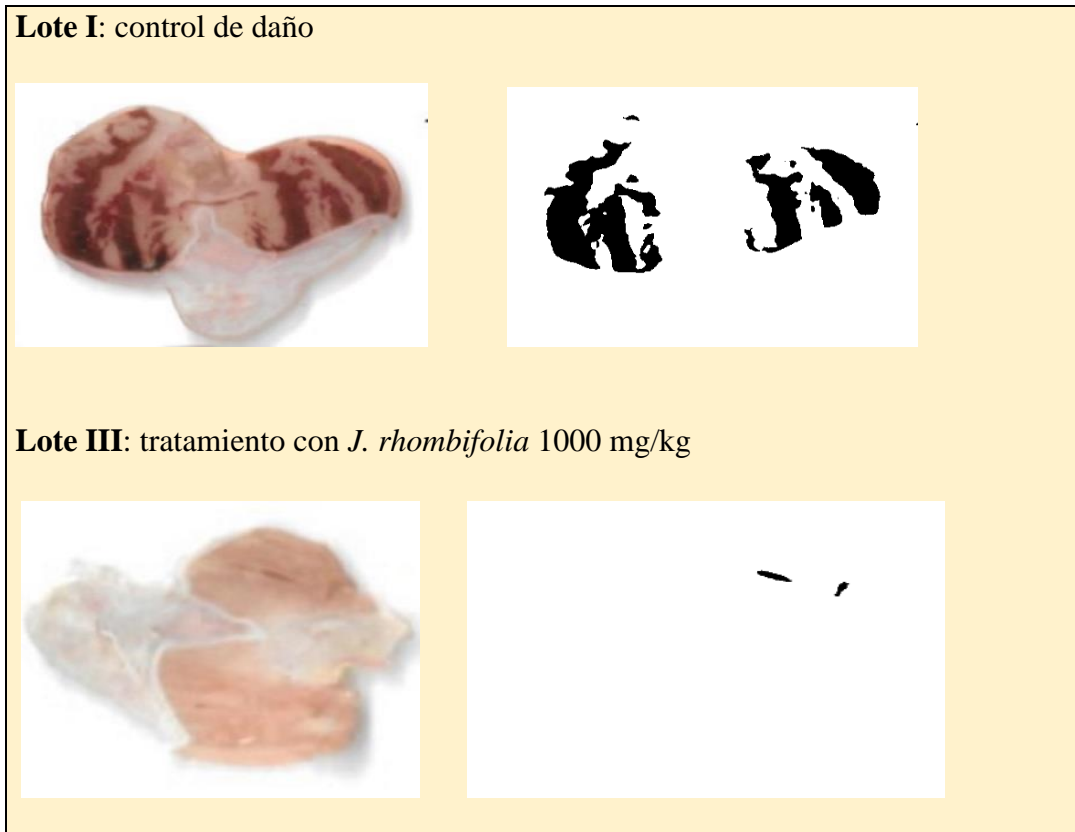
*Resultado de la Capacidad Citoprotectora Gástrica*

Lote	Tratamiento	Área de lesión (mm <sup>2</sup> )	% de inhibición
<b>Lote I:</b> control de daño	Solución fisiológica 1 h. después 1 ml de EtOH	135,55 ± 8,32	-
<b>Lote II:</b> l: control de protección	Carbenoxolona 250 mg/kg 1 h. después 1 ml de EtOH	3,6 ± 1,12***	97,35
<b>Lote III</b>	250 mg/kg de J.r. 1 h. después 1ml de EtOH	75,8 ± 7,10***	44,08
<b>Lote IV</b>	500 mg/kg de J.r. 1 h. después 1 ml de EtOH	55,2 ± 11,52***	59,28
<b>Lote V</b>	1000 mg/kg de J.r. 1 h. después 1 ml de EtOH	13 ± 4,59***	90,41

*Nota.* Se utilizó diferentes dosis de *J. rhombifolia* (J.r.) frente al modelo de lesiones gástricas inducidas por el etanol. Los resultados fueron expresados como media ± S.E.M. de 6-8 animales por cada lote. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  vs. control. (Test *t* de Student).

En la imagen correspondiente al control de daño, se observó áreas macroscópicas edematosas, con lesiones que se visualizaron como bandas hemorrágicas, lo que dejó en evidencia una marcada necrosis, inducidas por EtOH absoluto.

En la imagen macroscópica de la mucosa gástrica se observó el efecto gastro protector con el previo tratamiento con el extracto vegetal *J. rhombifolia*.

**Figura 7***Lesiones en la Mucosa Gástrica con Tratamiento de J. rhombifolia*

*Nota.* Dosis de 1000 mg/Kg

Realizado la extracción del estómago, se realizó la apertura del mismo por la curvatura mayor, se encontraron lesiones en la mucosa gástrica que constaban de bandas alargadas, generalmente paralelas al eje del estómago (Figura 7). Se utilizó luego el procesador de imágenes Image J (NIH), para medir el área de la zona dañada en mm<sup>2</sup>.

Se pudo observar que a dosis más altas 1000 mg/kg de *J.rhombifolia* la protección gástrica al igual que el control de protección con carbenoxolona. Sin embargo, a dosis menores (250 y 500 mg/Kg) también fue estadísticamente significativo la protección obtenida.

**Resultado segunda contrastación empírica:** se analizó las lesiones gástricas inducidas por diversos agentes necrosantes (NaOH, HCl y NaCl) en ratas con un ayuno de 24 horas.

Estos modelos permitieron evaluar la respuesta de la mucosa gástrica ante los diferentes agentes necrosantes.

El concepto original de citoprotección fue definido por Robert *et al.* (1979), quien propuso que pequeñas cantidades de prostaglandinas aplicadas sobre la mucosa gástrica en dosis menores a las que afectan la secreción ácida protegen esta mucosa de la necrosis cuando es expuesta a otros agentes ulcerogénicos además del etanol (EtOH), tales como el NaOH 0.2 N, HCl 0.6 N y NaCl 25%.

**Tabla 13**

*Resultado de la Actividad Citoprotectora Gástrica con otros Agentes Necrosantes*

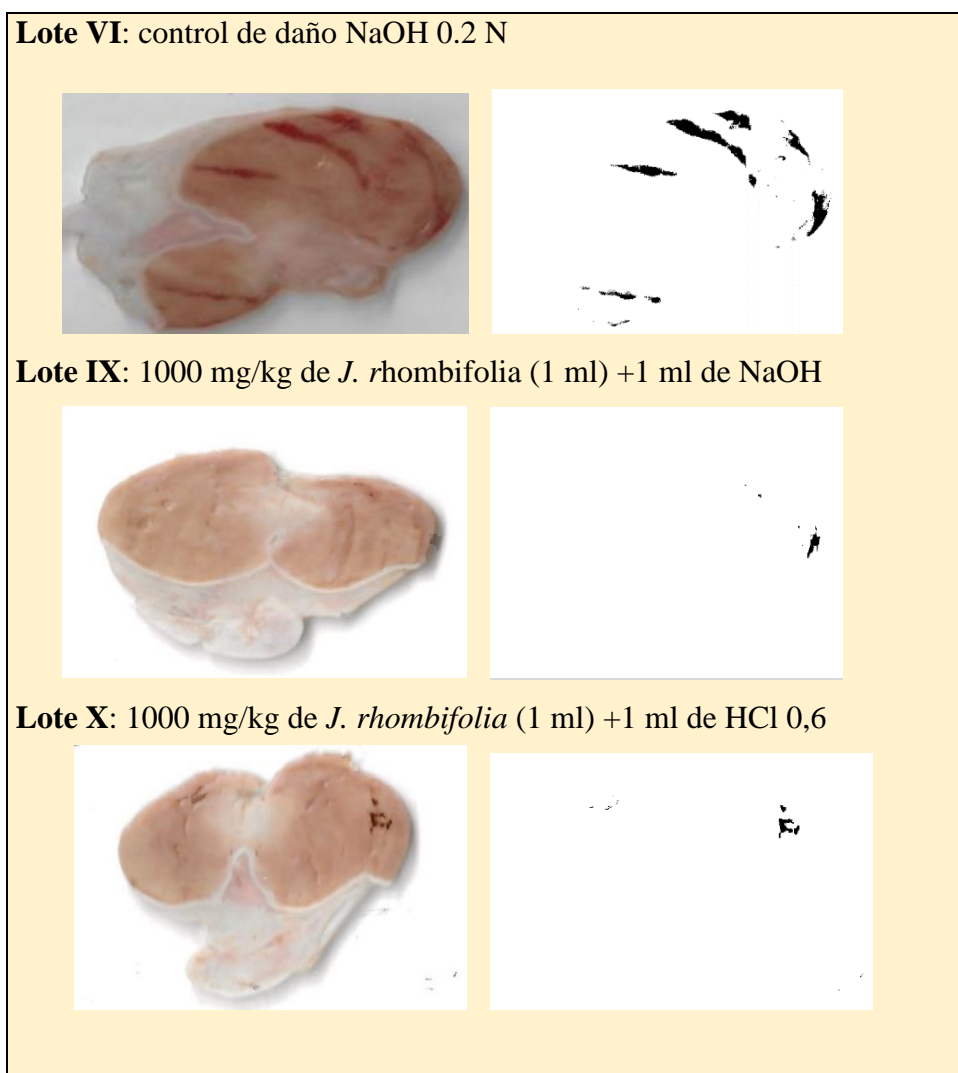
<b>Lote</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Área de lesión (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>% de inhibición</b>
<b>Lote VI</b>	NaOH 0,2 N 1ml/200g Control de daño	82,6 ± 17,2	-
<b>Lote VII</b>	1 ml de HCl 0,6 N 1 ml/200g Control de daño	51,68 ± 6,91	-
<b>Lote VIII</b>	NaCl 25% 1 ml/200g Control de daño	70,48± 9,48	-
<b>Lote IX</b>	1000 mg/kg de <i>J. rhombifolia</i> (1 ml) +1 ml de NaOH 0.2N	11,6 ± 1,28***	85,96
<b>Lote X</b>	1000 mg/kg de <i>J. rhombifolia</i> (1 ml) +1 ml de HCl 0,6 N	1,75± 0,56***	96,62
<b>Lote XI</b>	1000 mg de <i>J. rhombifolia</i> (1ml) +1ml de NaCl 25%	36,72±11,19***	47,12

*Nota.* Se administró diferentes agentes necrosantes (Na OH 0.2 N, HCl 0.6N y NaCl 25%) *n*= de 6 a 8. Los resultados están expresados como media ± S.E.M. de 6-8 animales por cada lote. \* *p*< 0.05, \*\* *p*< 0.01, \*\*\* *p*< 0.001 vs. control. (Test *t* de Student).

Se sabe que estos agentes promueven la formación de radicales libres de oxígeno (Halliwell, 1991), reducen los niveles de compuestos sulfhidrilos no proteicos (Szabo, 1988) y estimulan la formación de leucotrieno C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>), un metabolito derivado del ácido araquidónico a través de la acción de la lipooxigenasa (Hua *et al.*, 1985; Alqasoumi, 2012).

### Figura 8

*Lesiones en la Mucosa Gástrica con Tratamiento de J. rhombifolia*



Nota. Lesiones gástricas inducidas por diferentes agentes necrosantes (NaOH, HCl y NaCl)

El etanol (EtOH) es considerado un factor de riesgo para el desarrollo de úlceras gástricas. Penetra en la mucosa gástrica debido a la solubilidad en el mucus y expone

a la misma a la acción proteolítica e hidrolítica del HCl y pepsina. También estimula la secreción de ácido y reduce el flujo sanguíneo provocando daño microvascular y la interrupción del endotelio vascular, favoreciendo una mayor permeabilidad (Buenor Adinortey *et al.*, 2013).

Los daños ocasionados por las soluciones ulcerogénicas de NaOH y el NaCl, mostraron similitud al daño ocasionado por el EtOH, pero menor al daño producido por el HCl 0.6 N (Tabla 13)

En este ensayo las prostaglandinas fueron reemplazadas por el extracto de *J. rhombifolia*, que actuó como protector de la mucosa gástrica. La presencia de *J. rhombifolia*, ocasionó una disminución significativa del daño ocasionado por los diferentes agentes ulcerogénicos (Figura 8).

**Resultado tercera contrastación empírica:** se determinó la actividad citoprotectora gastroduodenal que dio de por resultado:

Se utilizó el método descrito por Melchiorri *et al.* (1997). En el estómago se observaron áreas macroscópicas edematosas, con lesiones que se visualizaron como bandas hemorrágicas, lo que dejó en evidencia una marcada necrosis, que también se manifestó sobre la superficie del duodeno expuesta a la acción de EtOH (Figura 9).

**Tabla 14**

*Resultado de la Actividad Citoprotectora Gastroduodenal*

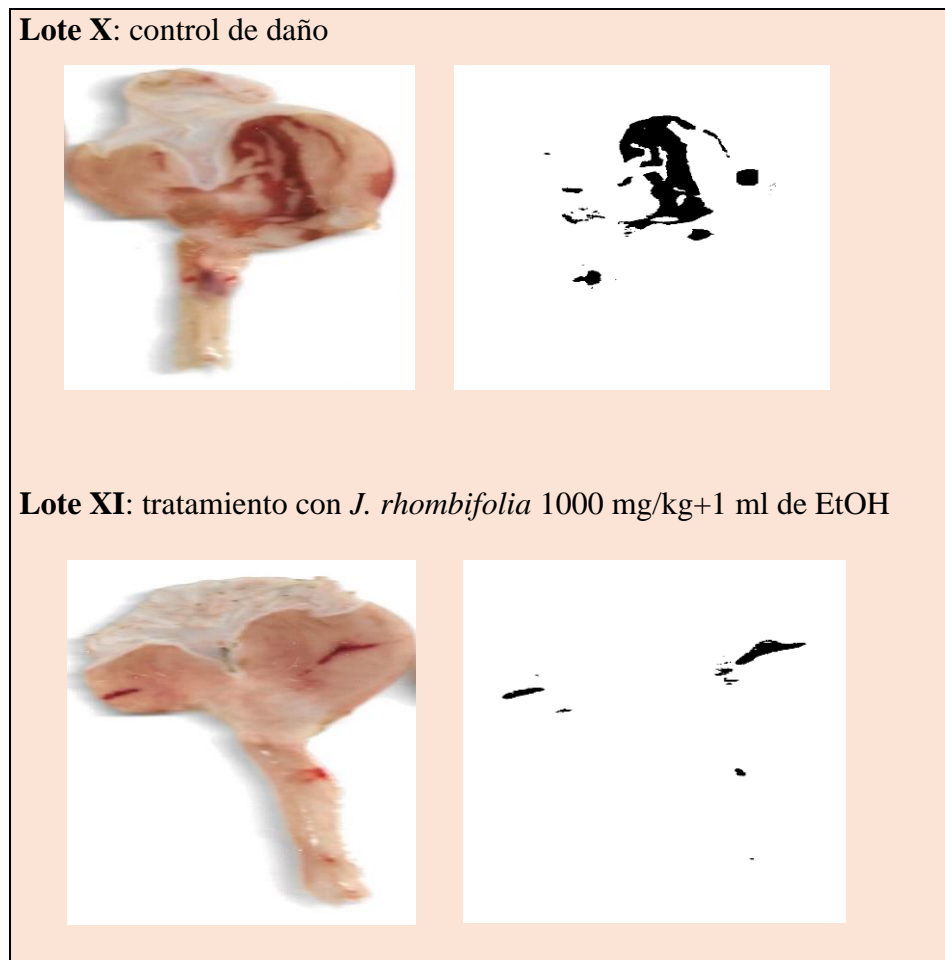
Lote	Tratamiento	Área de lesión (mm <sup>2</sup> )	% de inhibición
Lote X	1ml vía oral de Solución Fisiológica	89.11 ± 21.47	
Control	+ 1 ml de EtOH de daño		
Lote XI	1000 mg/k de <i>J.rhombifolia</i> (1 ml) +1 ml de EtOH	59,88 ± 8,52 **	32,81

*Nota.* Estudio realizado en ratas ambos sexos con 1000 mg de *J. rhombifolia*. Los resultados están expresados como media ± S.E.M. de 6-8 animales por cada lote. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  vs. control. (Test *t* de Student).

El pretratamiento con el extracto de *J. rhombifolia* 1000 mg/kg, redujo el daño macroscópico gastroduodenal de modo significativo con respecto al lote control de EtOH ( $89.11 \pm 21.47 \text{ mm}^2$ ) (Tabla 14).

### Figura 9

#### *Lesiones en la Mucosa Gástrica-duodenal con Tratamiento de J. rhombifolia*



*Nota.* Dosis de 1000 mg/Kg

**Resultado cuarta contrastación empírica:** con el presente estudio se determinó la participación de las prostaglandinas como mecanismo de acción en la actividad gastroprotectora y el efecto citoprotector de la infusión.

Se realizó un modelo experimental para determinar si la protección de *J. rhombifolia* sobre la mucosa gástrica es dependiente de la síntesis de prostaglandinas. Se observó una disminución significativa de las lesiones gástricas inducidas por EtOH,



en ratas pretratadas con Indometacina, donde se bloqueó la síntesis de prostaglandinas endógenas. El efecto citoprotector de la infusión se vio prácticamente anulado, no habiendo significación ( $p>0,05$ ) en la actividad de *J. rhombifolia* en el lote experimental que recibió previamente Indometacina respecto al lote que no fue pretratado (Tabla 15). Se podría inferir que el efecto que presenta la infusión frente a la acción de Indometacina muestra que existe un probable mecanismo de acción relacionado con la modulación de prostaglandinas endógenas (Figura 10).

**Tabla 15**

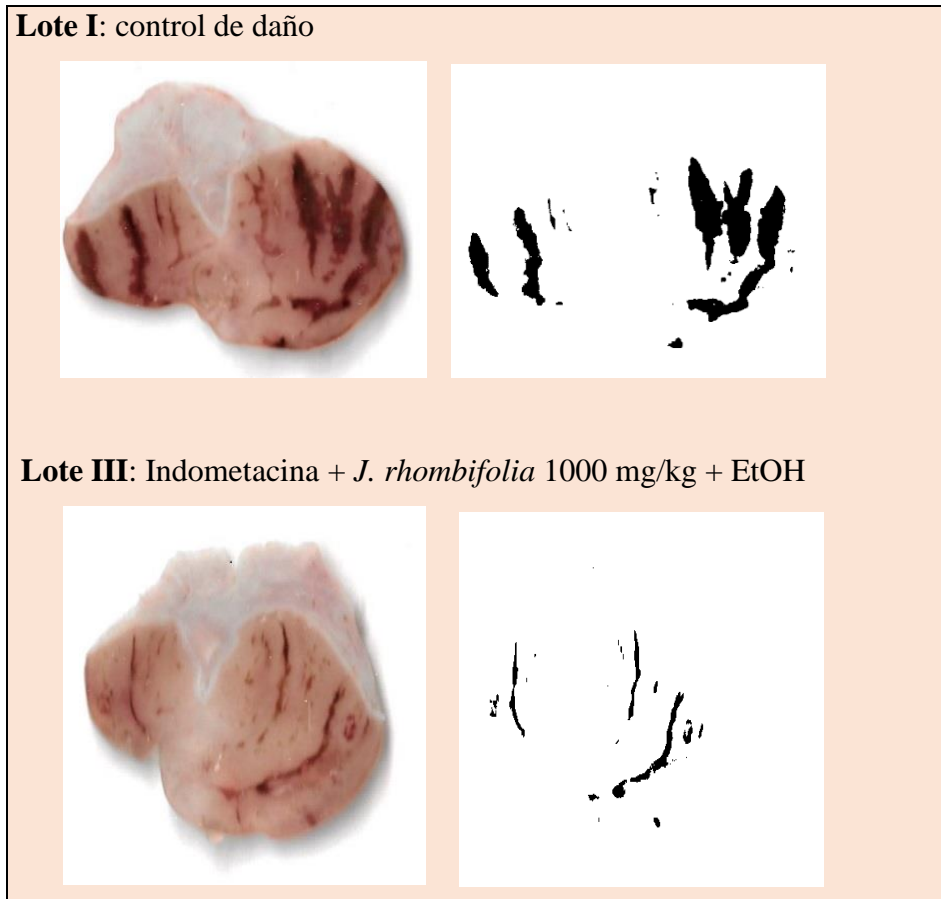
*Resultado del Estudio de las Prostaglandinas como Mecanismo de Acción en la Actividad Citoprotectora Gastroduodenal*

Lote	Tratamiento	Área de lesión (mm <sup>2</sup> )	% de inhibición
<b>Lote I</b>	0,2 ml Indometacina (10 mg/Kg; i.p.) + EtOH	76,48±5,28	-----
<b>Lote II</b>	EtOH + Solución fisiológica	135,48±8,35	-----
<b>Lote III</b>	0,2 ml Indometacina (10 mg/Kg; i.p.) +1000 mg/kg de <i>J.rhombifolia</i> + EtOH	57,78±11,87*	24,85
<b>Lote IV</b>	1000 mg/kg de <i>J.rhombifolia</i> + EtOH	14,66 ±4,97	80,84

*Nota.* Estudio en ratas de ambos sexos y pretratadas con 1000 mg de *J. rhombifolia*  $n=6$  a 8 Los resultados están expresados como media  $\pm$  S.E.M. de 6-8 animales por cada lote. \*  $p<0.05$  vs. Lote IV (Test  $t$  de Student)

**Figura 10**

*Lesiones en la Mucosa Gástrica Indometacina + Tratamiento de J. rhombifolia + Etanol (EtOH)*



**Resultado quinta contrastación empírica:** se determinó la participación de los grupos sulfhidrilos como mecanismo de acción en la actividad gastroprotectora y el efecto citoprotector de la infusión vegetal.

El inhibidor de los grupos sulfhidrilos N-etilmaleimida, (NEM, 10 mg/kg, vía s.c.), no produjo un empeoramiento de las lesiones gástricas ocasionadas por EtOH absoluto (Tabla 16).

Sobre la base de esta experiencia se puede sugerir que *J. rhombifolia* actúa independientemente de este mecanismo.

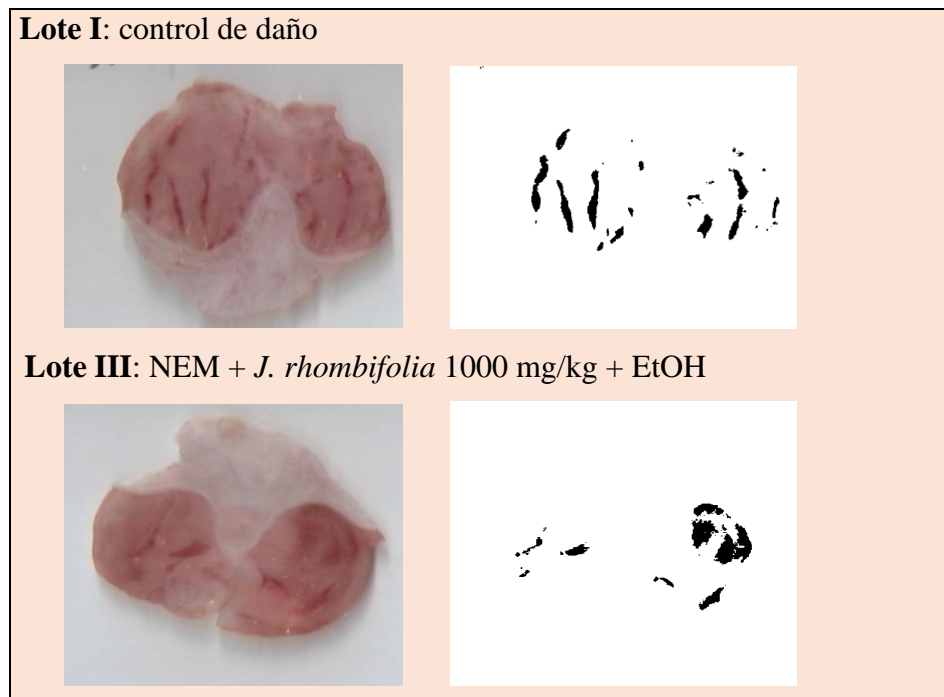
**Tabla 16***Resultados de Determinación de Participación de los Grupos Sulfhidrilos*

Lote	Tratamiento	Área de lesión (mm <sup>2</sup> )	% de inhibición
Lote I: control de daño	NEM 10 mg/kg s/c +EtOH	123,35±8,82	-
Lote II: control de daño	EtOH+ solución fisiológica	135,48±8,35	-
Lote-III	NEM 10 mg/kg s/c+ 1000 mg/kg de <i>J.rhombifolia</i> (1 ml) .+ EtOH	12,66±2,33***	89,74
Lote IV	1000 mg/kg de <i>J.rhombifolia</i> + EtOH	12,84±4,58***	89,6

*Nota.* Mecanismo citoprotector gástrico del extracto acuoso de *J. rhombifolia* (1000 mg/Kg, vía oral) en ratas macho y hembra pretratadas con N-etilmaleimida (NEM)

Los resultados están expresados como media ± S.E.M. de 6-8 animales por cada lote.

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  vs. control. (Test *t* de Student).

**Figura 11***Lesiones en la Mucosa Gástrica con Tratamiento de NEM+J. rhombifolia+Etanol*

**Resultado sexta contrastación empírica:** Determinación del mecanismo de acción en la actividad gastroprotectora mediante la participación del óxido nítrico.

**Tabla 17**

*Resultado del ensayo de determinación de la participación del óxido nítrico*

<b>Lote</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Área de lesión (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>% de inhibición</b>
<b>Lote I:</b> control de daño	L-NNA 40 mg/k +EtOH	137,57±18,96	-
<b>Lote II:</b> control de daño	EtOH+ solución fisiológica	139,92±8,42	-
<b>Lote-III</b>	L-NNA 40 mg/kg s/c+ <i>J. rhombifolia</i> 1000 mg/kg (1 ml) + EtOH	6,29±12,06***	80,89
<b>Lote IV</b>	<i>J. rhombifolia</i> 1000 mg/kg (1 ml) + EtOH	14,68±4,97***	89,33

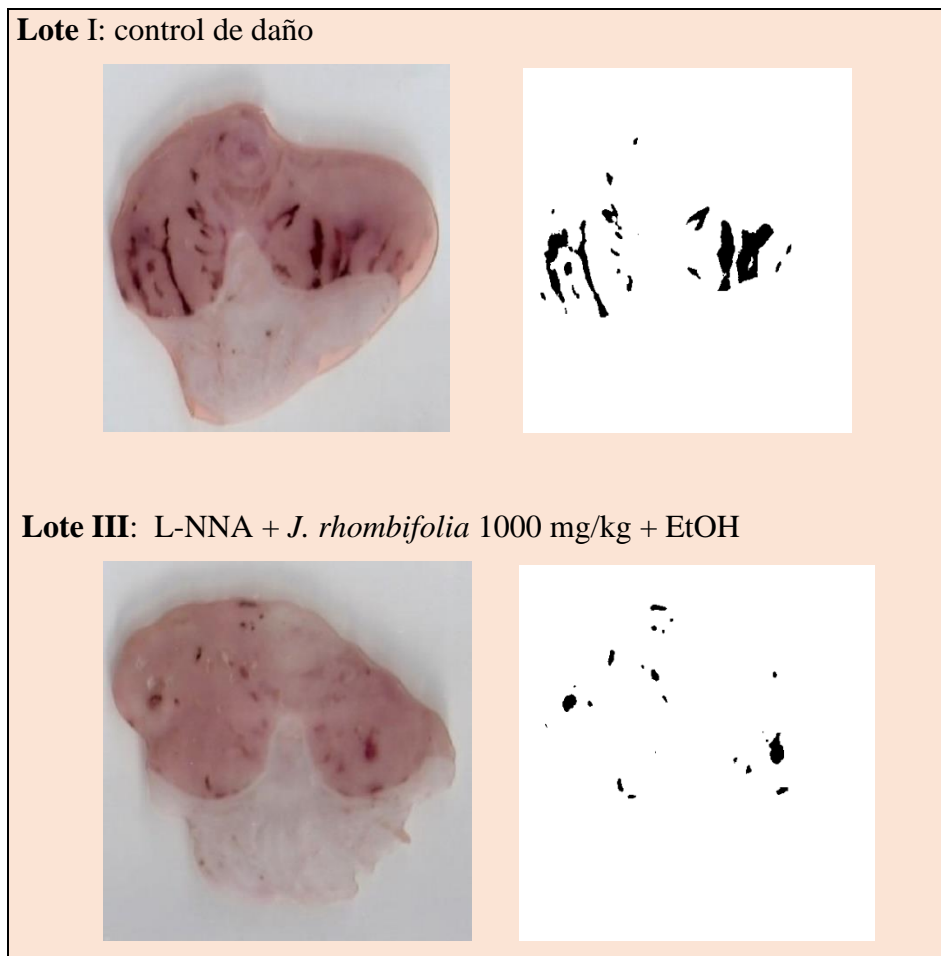
*Nota.* Mecanismo de acción cito protector gástrico del extracto acuoso de *J. rhombifolia* (1000 mg/Kg, vía oral) en ratas macho y hembra, pretratadas con NG-nitro-L-arginina (L-NNA, i.p.). Los resultados están expresados como media ± S.E.M. de 6-8 animales por cada lote. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  vs. control. (Test *t* de Student).

El óxido nítrico (NO) posee una importante función en lo referente a la defensa de la mucosa gástrica a través de numerosas acciones que incluyen el mantenimiento del flujo sanguíneo en la mucosa. El NO incrementa la síntesis de prostaglandinas en condiciones fisiológicas y patológicas e influencia la secreción de mucus gástrico, participando en los mecanismos de defensa gástrica. Si bien el bloqueo de síntesis de NO incrementa la susceptibilidad de la mucosa gástrica al daño inducido por EtOH. en esta experiencia, el pretratamiento con L-NNA (40 mg/kg, i.p.), un inhibidor de la enzima NOS, no mostró diferencia a las lesiones gástricas inducidas por el EtOH (Tabla 17). Por otra parte, el bloqueo de NO conservó la actividad gastroprotectora de

*J. rhombifolia* en la dosis evaluada, por lo que se podría inferir que el extracto vegetal actuó de forma independiente del mecanismo de acción manteniendo su efecto gastroprotector.

### Figura 12

*Lesiones en la Mucosa Gástrica con Tratamiento de LNNA+J. rhombifolia+Etanol*



### Discusión y Conclusiones

El presente trabajo permitió evaluar la capacidad citoprotectora del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *J. rhombifolia*, en la primera contrastación empírica, se analizó la actividad del extracto acuoso de *J. rhombifolia*. Se observó que a dosis más altas (1000 mg/kg) la protección gástrica es mayor, pero, aun así, en dosis menores (250 y 500 mg/Kg) también fue estadísticamente significativo la protección obtenida.

En nuestro estudio, los agentes ensayados produjeron un daño gástrico severo visible desde el exterior del estómago como líneas gruesas de color negro. Después de abrir el estómago, se encontraron lesiones en la mucosa en forma de bandas alargadas, generalmente paralelas al eje largo del estómago. Las lesiones se localizaron principalmente en el cuerpo (la porción del estómago que secreta ácido y pepsina); también se observó que el antro estaba menos afectado.

El etanol también llamado alcohol etílico es una sustancia muy utilizada en la experimentación con animales; el compuesto, penetra en la mucosa gástrica causando rápidamente daño a las células y membranas de la mucosa gastrointestinal. Estos procesos de formación de lesiones de la mucosa gástrica comienzan a través de una lesión microvascular, aumento de la permeabilidad vascular, que afecta la secreción de bicarbonato y moco, flujo de sodio y potasio, secreción de pepsina y pérdida de iones hidrógeno e histamina en el lumen (Szabo *et al.*, 1987). El aumento de la permeabilidad vascular también aumenta la permeabilidad de la membrana intracelular al sodio y al agua, causando una acumulación masiva de calcio que favorece la patogénesis de la lesión de la mucosa gástrica (Zakaria *et al.*, 2016).

En el presente trabajo, los datos obtenidos con la presencia del EtOH absoluto y modelos de HCl, NaOH y NaCl 25%, mostraron que las lesiones disminuyeron significativamente ante la presencia de *J. rhombifolia* en las dosis ensayadas.

En esta experiencia, al igual que en el modelo realizado por Robert *et al.* (1979), las lesiones se localizaron principalmente en el cuerpo (la porción del estómago que secreta ácido y pepsina); el antro estaba menos afectado. No se desarrolló una lesión macroscópica en la parte anterior (la porción cubierta con epitelio escamoso).

Existen reportes que describieron un modelo para producir una necrosis gástrica extensa en ratas en una hora. Consistió en administrar por vía oral, después de un ayuno de 24 horas, 1 ml de una variedad de agentes necrosantes, tales como EtOH absoluto, un ácido fuerte (HCl 0.6 N) y una base fuerte (NaOH 0.2 N), o agua caliente. Los investigadores observaron que varias prostaglandinas protegen el estómago contra el efecto necrosante producido por estos agentes, incluyendo una quemadura gástrica producida por agua caliente. En la parte anterior del estómago de la rata, tapizada por

un epitelio escamoso, no observaron necrosis, debido a la presencia de una gruesa capa de epitelio cornificado que cubre su superficie (Robert *et al.*, 1979).

El Etanol penetra en la mucosa gástrica causando rápidamente daño a las células y membranas de la mucosa gastrointestinal. Estos procesos de formación de lesiones de la mucosa gástrica comienzan a través de una lesión microvascular, aumento de la permeabilidad vascular, que afecta la secreción de bicarbonato y moco, flujo de sodio y potasio, secreción de pepsina y pérdida de iones hidrógeno e histamina en el lumen (Szabo *et al.*, 1987). El aumento de la permeabilidad vascular también aumenta la permeabilidad de la membrana intracelular al sodio y al agua, causando una acumulación masiva de calcio que favorece la patogénesis de la lesión de la mucosa gástrica (Zakaria *et al.*, 2016).

Se ha sugerido que uno de los mecanismos responsables del daño gastroduodenal inducido por EtOH es la generación de radicales libres. Superóxido dismutasa y catalasa, dos antioxidantes endógenos que protegen las células contra el anión superóxido y el hidroperóxido, respectivamente, disminuyen el daño a la mucosa causado por la administración de EtOH (Melchiorri *et al.*, 1997; Li *et al.*, 2016).

La importancia de las prostaglandinas endógenas en la modulación de los mecanismos de defensa de la mucosa se hace evidente por las diversas observaciones que apuntan a que los analgésicos no esteroideos que son potentes inhibidores de la síntesis de prostaglandinas son capaces de dañar a la mucosa gástrica (Robert *et al.*, 1979).

Relacionado a lo anteriormente expuesto, las prostaglandinas, incrementan el flujo sanguíneo en la mucosa gástrica, en base a ello, se ha sugerido que el efecto citoprotector se debe a respuestas vasculares ante la presencia de agentes nocivos para la mucosa gástrica, aunque éste no es el único mecanismo de protección implicado. (Paredes, 2018). Al respecto, se sabe que las prostaglandinas además son capaces de estimular la secreción de moco y bicarbonato y de esta forma incrementar el pH en el epitelio gastro-duodenal. También, las prostaglandinas reducen la secreción de ácido e incrementan la capa de los fosfolípidos. Estudios microscópicos han revelado que el mayor impacto citoprotector de las prostaglandinas es a nivel de la submucosa y no tanto en la superficie de la mucosa (Atay *et al.*, 2000).

Además, las prostaglandinas están involucradas en una gran variedad de procesos fisiológicos en el estómago, incluyendo la inhibición de la secreción de ácido, producción de moco y el incremento del flujo sanguíneo en la mucosa. La ciclooxigenasa es la enzima encargada de la producción de prostaglandinas. Existen dos isoenzimas, COX<sub>1</sub> y COX<sub>2</sub>. La primera se expresa de manera constitutiva en la mucosa gástrica y genera prostaglandinas involucradas en el mantenimiento de las funciones fisiológicas esenciales, mientras que la COX<sub>2</sub>, se caracteriza por su rápida inducibilidad en respuesta a estímulos proinflamatorios. Ésta es la responsable de la producción de prostaglandinas patológicas en sitios inflamados (Takeeda *et al.*, 2002).

La administración previa de Indometacina redujo significativamente el efecto gastroprotector de *J. rhombifolia*, lo que sugiere que las prostaglandinas participan de manera importante en el mecanismo de acción gastroprotector del vegetal en estudio, lo que pone de manifiesto que se requiere de la presencia de prostaglandinas para que ejerzan su acción gastroprotectora.

Por otro lado, se ha de resaltar que, generalmente, el daño gástrico inducido por EtOH se asocia con una disminución significativa en el nivel de grupos sulfhidrilos (GSH). Estos protegen a la mucosa gástrica, ya que participan en la producción de moco, además se unen a los radicales libres y de esta forma evitan su acción nociva. Además, se ha de mencionar que la unión de las glicoproteínas (presentes en la mucosa) con lípidos y mucina participan en procesos involucrados en la eliminación de radicales libres, que permiten un equilibrio entre factores agresivos y protectores (Lima *et al.*, 2008).

Nuestros datos muestran que el pretratamiento con el bloqueante de grupos sulfhidrilos, N-etilmaleimida, no redujo la protección de la mucosa observada con el tratamiento con *J. rhombifolia*. Estos hallazgos sugieren que los grupos sulfhidrilos no están involucrados en su mecanismo de acción.

Otro de los factores funcionales que protegen a la mucosa gástrica es el flujo sanguíneo. Una microcirculación eficiente es fundamental para mantener la barrera defensiva de la mucosa gástrica, ya que les proporciona oxígeno, bicarbonato y nutrientes a las células epiteliales y remueve los iones H<sup>+</sup>, previniendo la acidosis de los tejidos cercanos y manteniendo el equilibrio ácido-base (Díaz Casasola, 2015).



Este flujo sanguíneo está regulado por diversos factores, entre los que se encuentran: sistema nervioso autónomo, nervios peptidérgicos, NO, factor de crecimiento epidérmico (EGF) y prostaglandinas, específicamente la PGE<sub>2</sub> que es un agente citoprotector y actúa aumentando el flujo sanguíneo en la mucosa gástrica (Paredes, 2018).

Se considera que el NO tiene un papel fundamental en el mantenimiento de la integridad de la mucosa, ya sea provocando vaso relajación o promoviendo la síntesis de prostaglandinas (Tsukimi y Okabe, 2001). El mantenimiento de la integridad de la mucosa gástrica implica que el NO endógeno actúa junto con la prostaciclina y neuropéptidos sensoriales, tales como péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). Además de la liberación local de mediadores vasoactivos, el sistema nervioso central también interviene en la defensa de la mucosa gástrica. Desde hace tiempo se sabe que las lesiones, casi en cualquier parte del sistema nervioso central están asociadas con la patología gástrica. Numerosas pruebas sugieren que los procesos defensivos de la mucosa pueden iniciarse también a nivel central. Gyres *et al.* (2007) reportaron que la inyección intracisternal de neuropéptidos o la microinyección directa en sitios reguladores del cerebro, puede inducir la protección de la mucosa.

Sin embargo, en la experiencia realizada en el que se bloqueó de la síntesis del NO, no evidenció un incremento de la susceptibilidad de la mucosa gástrica al daño inducido por EtOH. El pretratamiento con L-NNA 40 mg/kg, i.p., un inhibidor de la enzima NOS, no incrementó las lesiones gástricas inducidas por el EtOH.

Por otra parte, el bloqueo de NO conservó la actividad gastroprotectora ya que el extracto acuoso de *J. rhombifolia*, mantuvo su efecto gastroprotector en la dosis evaluada, por lo que se podría concluir que el extracto acuoso actuó de forma independiente del mecanismo de acción.

La explicación acerca de los componentes químicos de esta especie vegetal, *J. rhombifolia*, está bastante poco estudiada, como así también, y en relación al número de usos populares que se le atribuyen, son poco cuantiosas las investigaciones preclínicas farmacológicas que validen los mismos y que den un respaldo acreditado, tanto desde el punto de vista farmacológico como toxicológico, a su empleo en la atención primaria de la salud. Por tal motivo, el principal objetivo perseguido en el

planteo de la presente tesis radica en aportar datos científicos relevantes para la medicina popular, debido a que gran cantidad de pobladores basan su sistema de salud en el uso de plantas medicinales (Teves, 2019).

# Capítulo 5

### **Evaluación de la Actividad Hepatoprotectora**

En este capítulo se realizan las contrastaciones destinadas a la verificación de la actividad hepatoprotectora de *J. rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae).

### **Bases Fisiológicas del Sistema Hepático**

El hígado es un órgano intratorácico, situado en la parte superior derecha de la cavidad abdominal, debajo del diafragma y por encima del estómago, el riñón derecho y los intestinos, de color marrón rojizo, es el órgano más voluminoso del cuerpo y representa el 2% del peso corporal total, su peso en una persona adulta suele ser de 1.400 a 1.500 gramos. En su cara inferior derecha se localiza la vesícula biliar, destinada a recibir y almacenar la bilis producida por el hígado para ayudar en la digestión. La bilis elimina muchas sustancias endógenas y exógenas del hígado, a la vez que cumple una importante función como líquido digestivo (Guyton y Hall, 2016).

El hígado es un órgano complejo y de múltiples e intensas funciones, no obstante, se pueden agrupar en las siguientes 4 tareas específicas:

1. Funciones metabólicas
2. Función de desintoxicación, secreción y eliminación
3. Función almacenadora de nutrientes
4. Función de defensa o inmunológica

Dentro de la función metabólica se incluyen acciones específicas para el mantenimiento del equilibrio de los siguientes nutrimentos: a) proteínas, b) carbohidratos y c) lípidos.

a) Metabolismo de las proteínas: las células del hígado son esenciales para, mantener el equilibrio de proteínas y sus productos de desecho. Dentro de las principales funciones del hígado se encuentran: formación de la urea, que suprime el amoníaco de los líquidos corporales; síntesis de aproximadamente el 90% de todas las proteínas plasmáticas. (Drucker Colin, 2005)

A partir de los aminoácidos que son absorbidos en el intestino delgado el hígado produce numerosas proteínas. Asimismo, las células del hígado producen

numerosas enzimas que participan en los procesos metabólicos de transformación de carbohidratos y grasas o de alcohol, como, por ejemplo:

- Transaminasa glutámico pirúvica (GPT) o alanino amino transferasa (ALT).
- Transaminasa glutámica oxaloacética o aspartato amino transferasa (GOT).
- Gama glutamil transpeptidasa (GGT)
- Fosfatasa alcalina (FAL)
- Glucosil-transferasa que permite la transformación de bilirrubina directa e indirecta.
- Alcohol deshidrogenasa; enzima involucrada en la transformación de alcohol a productos de menor daño

b) Metabolismo de los hidratos de carbono, las funciones específicas del hígado en el metabolismo de los carbohidratos incluyen: almacenamiento de glucógeno, conversión de galactosa y fructosa a galactosa, como también la gluconeogénesis. Asimismo, tiene a su cargo la formación de compuestos químicos y la producción de glucosa a partir de precursores no glucosídicos. (Drucker Colin, 2005).

c) Metabolismo de los lípidos: Los hepatocitos almacenan algunos triglicéridos; degradan ácidos grasos para generar ATP; sintetizan lipoproteínas, que transportan ácidos grasos, triglicéridos y colesterol hacia las células del cuerpo; sintetizan colesterol y utilizan el colesterol para formar sales biliares. (Drucker Colin, 2005).

En cuanto a la función de desintoxicación, secreción y eliminación, se incluyen las siguientes tareas:

- a) Eliminación o excreción de fármacos
- b) Inactivación de hormonas
- c) Transformación de la bilirrubina
- d) Metabolismo del alcohol

a) La eliminación o excreción de fármacos incluye la detoxificación de fase 1, a través de diversos procesos como oxidación, reducción e hidrólisis donde se fijan o neutralizan toxinas y las enzimas de fase 2, que facilita su eliminación, incorpora procesos de conjugación, sulfatación, la glucuronidación y la metilación o la acetilación.

b) Son múltiples las hormonas que se producen en el organismo y son posteriormente inactivadas en el hígado: hormonas esteroides (producidas en la corteza suprarrenal, ovarios y testículos) las aminas biogénicas (tiroideas, médula suprarrenal o de la glándula pineal) o las hormonas proteínicas (hipotálamo e hipófisis, calcitonina, páncreas endócrino, paratiroides, digestivas).

c) Excreción de la bilirrubina, que deriva del hemo de los eritrocitos viejos, es captada por el hígado desde la sangre y se secreta con la bilis. La mayor parte de la bilis es metabolizada en el intestino delgado por las bacterias y eliminada junto con las heces.

d) El metabolismo del alcohol es un proceso complejo que implica absorción, distribución y eliminación; en el hígado se metaboliza más del 90% del alcohol en el organismo, se convierte en acetaldehído mediante la acción de las enzimas alcohol deshidrogenasa (ADH), citocromo P540-2E1 (CYP2E1) o catalasa, tiene como función principal el metabolismo de diferentes xenobióticos que ingresan al cuerpo, como medicamentos, drogas y alcohol; luego el acetaldehído se convierte en acetato y agua por la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH) (Gaviria *et al.*, 2016).

Respecto a la función de almacenamiento de nutrientes, las células hepáticas almacenan grasa e, hidratos de carbono, vitaminas liposolubles e hidrosoluble, junto a otros minerales como zinc, hierro y cobre.

En relación a la función de defensa o inmunológica, esta acción corresponde a la de neutralización de las toxinas y microorganismos patógenos. En este proceso, cumplen un rol fundamental las células reticuloendoteliales estrelladas (Kupffer) del hígado fagocitando glóbulos blancos, glóbulos rojos y algunas bacterias. También, están implicadas las citosinas, que aumenta o disminuye el flujo sanguíneo, las moléculas de adhesión que permite fijar o inactivar a microorganismos patógenos. Sumado a esto se encuentran los derivados reactivos de oxígeno, permite inactivar o dañar a agentes nocivos y los eicosanoides que intervienen en la reacción ampliando o reduciendo la acción inflamatoria.

En cuanto a la función digestiva, el hígado cumple un rol fundamental en la producción de la bilis, que desempeña un papel destacado en la digestión y absorción de las grasas. Los ácidos biliares ayudan por un lado a emulsionar las grandes

partículas de grasa de los alimentos, por el otro, favorecen la absorción de los productos finales de las grasas a través de la mucosa intestinal (Guyton y Hall, 2016).

Efecto hepatoprotector de *J. rhombifolia* en hepatotoxicidad producida por paracetamol

El efecto hepatoprotector tiene por objeto proteger al hígado de agentes externos e internos, mejorando el funcionamiento de las células hepáticas, protegiendo al hígado de las hepatotoxinas.

Tanto la Etnobotánica como la medicina popular han reportado una variedad de plantas medicinales, utilizadas en las enfermedades gastrointestinales con efecto hepatoprotector debido a su alto contenido de compuestos polifenólicos. Por ejemplo, *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (Asteraceae) posee un efecto hepatoprotector debido a la presencia de flavolignanos. Dicho compuesto es quizás el más utilizado por la Medicina Alternativa Complementaria (MAC) en los tratamientos de enfermedades hepáticas. (Rosales *et al.*, 2017, p.3).

En la medicina tradicional argentina se usan las hojas de *J. rhombifolia* en infusión como hepático/hepatoprotector (Alonso y Desmarchelier, 2015; Hurrell *et al.*, 2011; Lahitte *et al.*, 1998). Martínez *et al.* (2011) informan que las hojas pueden utilizarse en infusión o decocción, para el mismo uso tradicional. Mientras que otros autores han comunicado este uso sin diferenciar la parte utilizada ni la forma de uso (Chifa y Ricciardi, 2004; Raad, 2015).

Los principales constituyentes químicos identificados en las hojas son: compuestos fenólicos, ácidos orgánicos, taninos, flavonoides, esteroides, gomas y mucilagos; en sus partes aéreas: esteroides, triterpenoides, alcaloides, cumarinas, saponinas (Barboza *et al.*, 2009). En un screening fitoquímico del extracto etanólico de las hojas realizado por Alice *et al.* (1991), se demostró la presencia de esteroides y triterpenos en gran cantidad, encontrándose también alcaloides, cumarinas y saponinas en bajas proporciones.

Monthana *et al.* (2009), llevaron a cabo un estudio de los extractos acuoso e hidroetanólico de hojas de *J. rhombifolia* mediante cromatografía (Columna Sephadex LH-20; fase móvil: metanol) separaron los compuestos, que luego se analizaron por

espectroscopía UV, <sup>1</sup>H NMR y <sup>13</sup>C NMR. Algunos compuestos se identificaron con TLC bidimensional en gel de sílice. Los compuestos aislados pertenecieron, predominantemente, al grupo de los C-Glicosilflavonoides, siendo los principales: 2-vicenina, vitexina, orientina y swertisina.

Se ha detectado la presencia del flavonoide Vitexina y del ácido clorogénico en el extracto acuoso de la corteza obtenido por decocción; analizado por cromatografía en capa fina (TLC) y posteriormente por HPLC-UV (Del Valle *et al.*, 2017).

El hígado es un órgano de metabolización de diferentes sustancias, ya sean nutrientes o fármacos. Los productos metabólicos pueden ser metabolitos activos, inactivos o tóxicos. La toxicidad que producen puede ser hepatocelular o citotóxica, colestásica o mixta. La gravedad varía desde alteraciones bioquímicas hasta una sintomatología moderada, grave e incluso mortal.

El paracetamol o acetaminofén es un derivado de la anilina que posee eficacia antitérmica y analgésica. Es seguro en dosis terapéuticas, pero puede producir necrosis hepática fatal en el hombre, en la rata y ratón, con dosis tóxica (Ganesan *et al.*, 2004, Graham *et al.*, 2005). En ratas y ratones, el paracetamol, produce una necrosis centrilobular dosis dependiente, similar a la producida en el hombre (Klassen, 2008; Mitchell *et al.*, 1973).

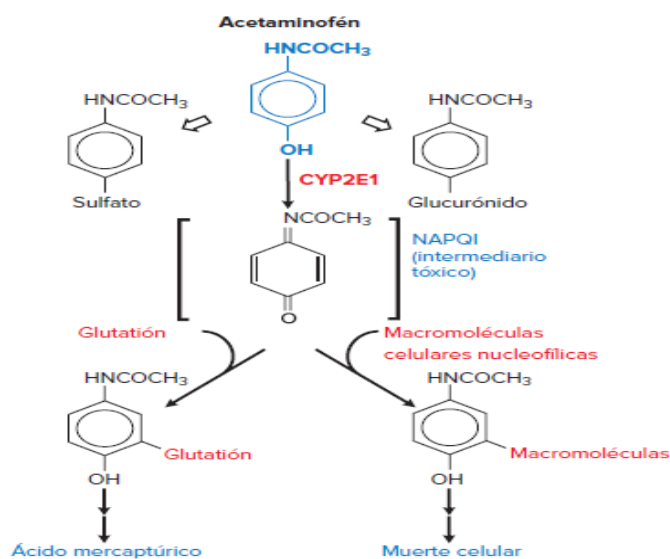
Las dosis habitualmente terapéuticas de paracetamol no son hepatotóxicas porque la mayor parte de este fármaco es glucuronizado o sulfatado sin mucha bioactivación. Es metabolizado hasta el 95% en el hígado. Los principales metabolitos son conjugados con ácido glucurónico (~60%), ácido sulfúrico (~35%) o cisteína (~3%). Una pequeña fracción (4-5%) se convierte por oxidación, en la fracción microsómica, utilizando el sistema de oxidasas de función mixtas y citocromo P-450 (CYP2E1 y CYP3A4), de esta conversión se genera un metabolito extremadamente reactivo, la N-acetilbenzoquinoneimida (NAPQI). Este metabolito por lo regular reacciona con grupos sulfhidrilo en GSH (glutación reducido) y por tanto se vuelve inofensivo. Las Glutación-S-Transferasas (GST) catalizan la transferencia de glutación a electrófilos reactivos, una función que sirve para proteger las macromoléculas celulares de la interacción con electrófilos que contienen heteroátomos electrofílicos (-O, -N y -S) y, a su vez, protegen el ambiente celular contra daños (Hayes *et al.*,



2005). El cosustrato de la reacción es el glutatión, un tripéptido compuesto por ácido  $\gamma$ -glutámico, cisteína y glicina (Grosser *et al.*, 2009). Sin embargo, después del consumo de grandes dosis de paracetamol, las vías metabólicas primarias se saturan y la velocidad de formación de este metabolito excede la síntesis de glutatión hepático, reaccionando covalentemente con aminoácidos de enzimas y proteínas hepáticas a las que inactiva, provocando una necrosis hepática aguda (Feria, 2014; Larson, 2007). El metabolito NAPQI se elimina de forma rápida por conjugación con GSH y luego se metaboliza a un ácido mercaptúrico y se excreta en la orina. En el contexto de la sobredosis de paracetamol, los niveles hepatocelulares de GSH se agotan (Mitchell *et al.*, 1973).

**Figura 13**

*Vías del Metabolismo de Paracetamol y Toxicidad*



*Fuente.* Las bases farmacológicas de la terapéutica. Goodman & Gilman (2019)

El metabolito NAPQI altamente reactivo se une de manera covalente a las macromoléculas de las células (aminoácidos y proteínas intracelulares del hepatocito), lo que lleva a la disfunción de los sistemas enzimáticos y el desorden estructural y metabólico. Además, el agotamiento de GSH intracelular hace que los hepatocitos sean muy susceptibles al estrés oxidativo y la apoptosis lo que resulta en toxicidad y muerte celular. La sobredosis con paracetamol origina un cuadro tóxico de necrosis hepática, a veces complicado con lesiones renales, cardíacas y pancreáticas agudas. Cuando la cantidad de glutatión es inadecuado, NAPQI aumenta la producción de especies

reactivas de oxígeno (ROS) como superóxido, peróxido de hidrógeno, peroxinitrito y radical hidroxilo (Azarmehr *et al.*, 2019). La toxicidad por paracetamol asociada con niveles aumentados de NAPQI y necrosis hepática, puede ser tratada con la administración de N-acetilcisteína de manera dependiente del tiempo y de la concentración del fármaco. N-acetilcisteína es precursor de glutatión, normalizando sus niveles.

Cuando la membrana plasmática de las células hepáticas es dañada, una variedad de enzimas normalmente localizadas en el citosol, son liberadas al torrente sanguíneo. En la necrosis de los hepatocitos se pueden detectar bioquímicamente las grietas y escapes de la membrana citoplasmática analizando en el plasma (o el suero) las enzimas hepáticas derivadas del citosol. Las transaminasas plasmáticas se vuelven elevadas, a veces muy notables, comenzando alrededor de 12-36 h después del consumo. El paracetamol produce destrucción de los hepatocitos (Klaassen, 2008). El daño hepático inducido por paracetamol se ha convertido en un modelo estándar en la investigación de farmacología y toxicología porque es clínicamente relevante, está bien estudiado y se induce rápidamente *in vivo*. El daño hepático inducido por paracetamol en roedores se utiliza con frecuencia como modelo para probar el potencial hepatoprotector de las terapias a base de hierbas (McGill *et al.*, 2012).

El presente estudio se llevó a cabo para determinar el efecto del extracto liofilizado de *J. rhombifolia*, sobre el daño hepático experimental inducido por paracetamol.

### **Fase experimental**

#### **Contrastación empírica para la determinación del efecto hepato protector de *J. rhombifolia***

La injuria hepática se produjo por la administración oral de 640 mg/kg de paracetamol. (Gilani *et al.*, 1992)

Se dispusieron ratas Wistar de ambos sexos de 150-200 gramos, con alimento y agua a demanda, que se repartieron en cinco lotes:

- **Lote I:** control, se le administró solución fisiológica (SF), v.o.

- **Lote II:** se le administró tres dosis de SF (10 ml/kg, v.o.) a intervalos de 24 h y paracetamol (v.o.) una hora después de la última dosis de SF.
- **Lote III:** se le administró tres dosis de silimarina (200 mg/kg, v.o.) a intervalos de 24 horas y paracetamol una hora después de la última dosis de silimarina.

La silimarina es un complejo de tres flavonoides, silibina, silidanina y silicrisina aislado del cardo mariano, una planta que ha sido muy estudiada como protector hepático y descongestivo. Su mecanismo de acción radica en aumentar el glutatión, el mismo interviene en la desintoxicación de fármacos y productos químicos. (Alonso y Desmarchelier, 2015)

- **Lotes IV y V:** se le administraron tres dosis (500 y 1000 mg/kg, v.o., respectivamente) del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *J. rhombifolia* a intervalos de 24 h y paracetamol una hora después de la última dosis.

Protocolo F-359/21: Estudio de la actividad hepatoprotectora de *Jodina rhombifolia*. Resolución N° 100/21

En la Tabla 18 se representa el procedimiento experimental seguido en los primeros tres días del ensayo de determinación de la actividad Hepatoprotectora de *J. rhombifolia*.

**Tabla 18**

*Días 1 a 3. Determinación de la actividad Hepatoprotectora de J. rhombifolia*

<b>Lote</b>	<b>Tratamiento</b>
<b>Lote I</b> (Control)	Solución Fisiológica 1m (v.o.)
<b>Lote II</b> (Control)	Solución Fisiológica 1m (v.o.)
<b>Lote III</b> (Control positivo)	Silimarina 200 mg/kg (v.o.)
<b>Lote IV</b>	500 mg de <i>J. rhombifolia</i> (v.o.)
<b>Lote V</b>	1000 mg de <i>J. rhombifolia</i> (v.o.).

*Nota.* Se utilizaron dosis de 500 y 1000 mg/kg de *J. rhombifolia* (n= de 6 a 8 animales)

**Tabla 19***Día 4. Determinación de la actividad Hepato protectora de J. rhombifolia*

<b>Lote</b>	<b>Tratamiento</b>		
<b>Lote I</b> (Control)	Solución Fisiológica 1m (v.o.)	-	-
<b>Lote II</b> (Control)	Solución Fisiológica 1m (v.o.)	1 h después	Paracetamol (dosis hepatotóxica)
<b>Lote III</b> (Control positivo)	Silimarina 200 mg/kg (v.o.)	1 h después	Paracetamol (dosis hepatotóxica)
<b>Lote IV</b>	500 mg de <i>J. rhombifolia</i> (v.o.)	1 h después	Paracetamol (dosis hepatotóxica)
<b>Lote V</b>	1000 mg de <i>J. rhombifolia</i> (v.o.).	1 h después	Paracetamol (dosis hepatotóxica)

*Nota.* Se utilizaron dosis de 500 y 1000 mg/kg de *J. rhombifolia* ( $n=$  de 6 a 8 animales)

Estos animales, expuestos a alimento y agua a demanda, veinticuatro horas después se eutanizaron por inhalación de dióxido de carbono y se extrajo sangre para la determinación de parámetros bioquímicos como enzimas hepáticas: GOT (Transaminasa glutámico oxalacética), GPT (Transaminasa glutámico-pirúvica) y FAL (Fosfatasa alcalina).

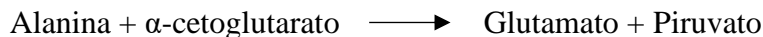
La sangre fue centrifugada para separar el suero de los glóbulos rojos. Las determinaciones bioquímicas se realizaron con técnicas de análisis manual con la utilización de reactivos Wiener lab., con los siguientes fundamentos analíticos:

- *Determinación de enzimas transaminasas por el método colorimétrico:*

La enzima transaminasa glutámico oxalacético (GOT) cataliza la siguiente reacción:



La enzima transaminasa glutámico pirúvico (GPT) cataliza la siguiente reacción:



El piruvato formado (el oxalacetato es inestable y se transforma en piruvato) reacciona con 2,4 dinitrofenilhidracina produciéndose en medio alcalino un compuesto coloreado que se mide a 505 nm.

- *Determinación de la enzima Fosfatasa Alcalina por el método colorimétrico:*

La fosfatasa alcalina desdobra al fenilfosfato de sodio en medio alcalino tamponado con aminometil propanol (AMP). El fenol liberado se determina por reacción con 4-amino-antipirina y ferricianuro como agente oxidante. El color desarrollado es directamente proporcional a la actividad enzimática y se mide a 520 nm.

Se registró el peso del hígado y se calculó el índice hepático mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Índice hepático (\%)} = (\text{peso del hígado} / \text{peso corporal}) \times 100$$

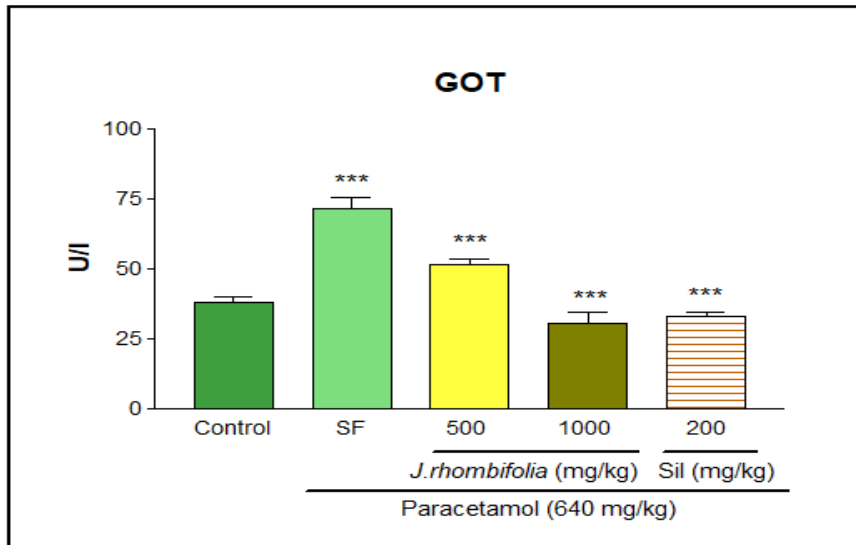
- *Análisis estadístico:*

Los resultados se expresaron como la Media  $\pm$  Error estándar y la significación estadística de las diferencias entre grupos se calculó utilizando ANOVA con posterior comparación por Tukey-Kramer.

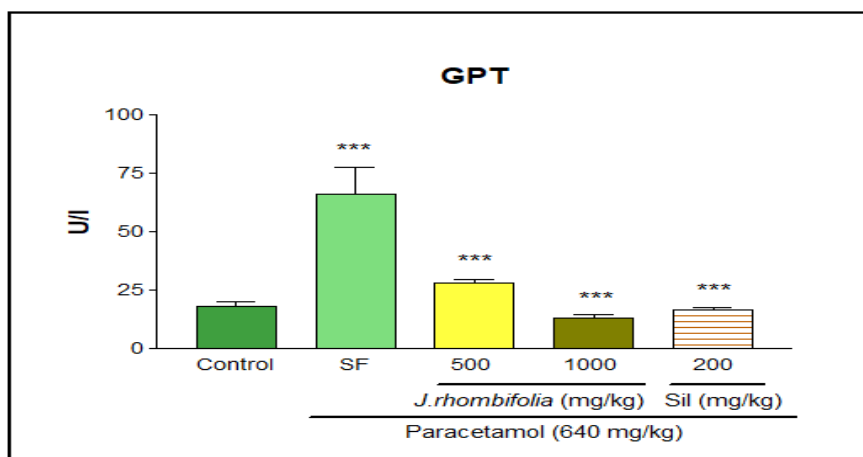
## Resultados

Los efectos hepatoprotectores de la infusión de *J. rhombifolia* se evaluaron en función de la actividad de GOT, GPT y FAL en suero, como marcadores de daño hepatocelular. GOT y GPT están presentes en altas concentraciones en los hepatocitos y por lo tanto su concentración sérica puede servir como indicador de daño hepático (Lahon y Das, 2011; Meera *et al.*, 2009; Raskovic *et al.*, 2014).

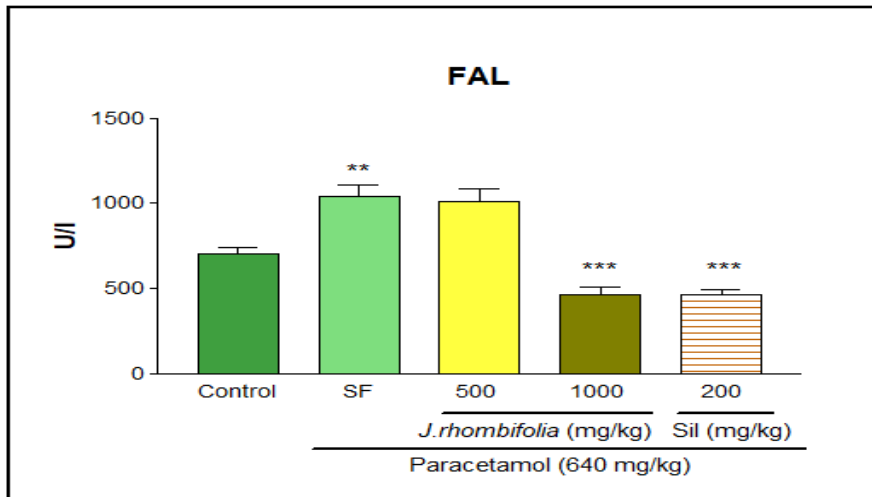
La dosis tóxica de paracetamol (640 mg/kg) produjo un severo daño hepático, como indica el incremento significativo en los valores de GOT ( $p<0.001$ ), GPT ( $p<0.001$ ) y FAL ( $p<0.01$ ) en comparación con el grupo control (Solución fisiológica). El pretratamiento con la infusión de *J. rhombifolia* disminuyó significativamente la actividad de GOT ( $p<0.001$ ) vs. Paracetamol (Figura 13). También disminuyó significativamente la actividad de GPT ( $p<0.001$ ) vs. Paracetamol (Figura 14). La actividad de FAL disminuyó significativamente, sólo con la dosis de 1000 mg/kg de *J. rhombifolia* ( $p<0.001$ ) vs. Paracetamol (Figura 15). Silimarina, fármaco hepatoprotector, disminuyó significativamente la actividad de GOT, GPT y FAL (todas con un  $p<0.001$ ).

**Figura 14***Actividad Enzimática de GOT (U/l)*

Nota. SF (solución fisiológica), Sil (Silimarina). \*\*\*  $p < 0.001$  Paracetamol vs. Control. \*\*\*  $p < 0.001$  *J. rhombifolia* vs. Paracetamol; Silimarina vs. Paracetamol.

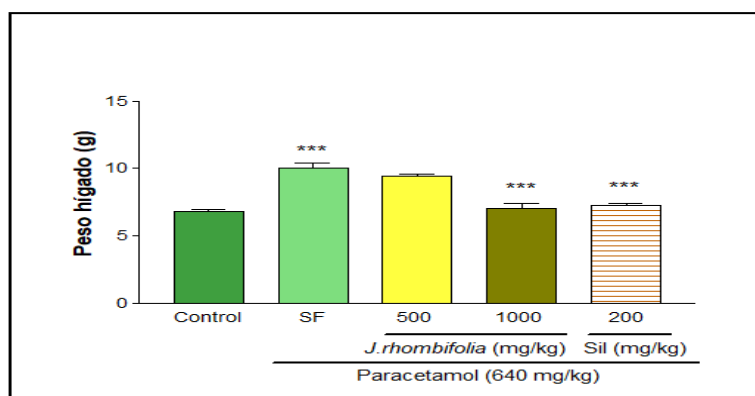
**Figura 15***Actividad Enzimática de GPT (U/l)*

Nota. SF (solución fisiológica), Sil (Silimarina). \*\*\*  $p < 0.001$  Paracetamol vs. Control. \*\*\*  $p < 0.001$  *J. rhombifolia* vs. Paracetamol; Silimarina vs. Paracetamol.

**Figura 16***Actividad Enzimática de FAL (U/l)*

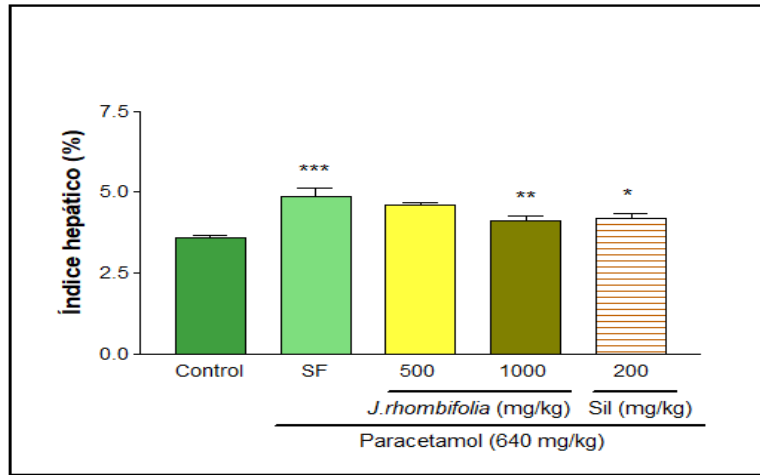
*Nota.* SF (solución fisiológica), Sil (Silimarina). \*\*\*  $p < 0.001$  Paracetamol vs. Control. \*\*\*  $p < 0.001$  *J. rhombifolia* vs. Paracetamol; Silimarina vs. Paracetamol.

En comparación con el grupo control, el lote de paracetamol mostró significativamente mayor peso e índice hepático (\*\* $p < 0.001$ ). El peso y el índice hepático en el grupo tratado con *J. rhombifolia* (1000 mg/kg) fueron más bajos que los del grupo paracetamol (\*\* $p < 0.001$  y \* $p < 0.01$ , respectivamente).

**Figura 17***Peso de Hígado (g)*

*Nota.* SF (solución fisiológica), Sil (Silimarina). \*\*\*  $p < 0.001$  Paracetamol vs. Control. \*\*\*  $p < 0.001$  *J. rhombifolia* vs. Paracetamol; Silimarina vs. Paracetamol.



**Figura 18***Índice Hepático (%)*

Nota. SF (solución fisiológica), Sil (Silimarina). \*\*\*  $p < 0.001$  Paracetamol vs. Control.  
\*\* $p < 0.01$  *J. rhombifolia* (1000 mg/kg) vs. Paracetamol; \* $p < 0.05$  Silimarina vs. Paracetamol

## Discusión y Conclusiones

En general se considera al paracetamol como un medicamento seguro y el efecto adverso más frecuente es la hepatotoxicidad, que generalmente se produce después de sobredosis aguda (James *et al.*, 2003). Este medicamento genera enfermedad hepática aguda en donde la característica principal es el aumento de las transaminasas (Dufour, 1988). La determinación de las transaminasas es un ensayo bioquímico muy sensible, esto se debe a que son enzimas que poseen una alta actividad enzimática en el interior del hepatocito y que según su ubicación intracelular han sido definidas como GPT que se encuentra principalmente en el citoplasma del hepatocito y GOT de ubicación principal en la mitocondria del hepatocito. También GPT presenta una elevada actividad en hepatocitos, con niveles celulares de 3.000 veces mayores que en plasma. Cuando se producen daños en la membrana del hepatocito, estas enzimas como la GOT, son liberadas de forma masiva al medio extracelular y provoca el incremento brusco de estas enzimas en el ámbito plasmático. Además, hay que evaluar la vida media enzimática, GOT tiene una vida media de  $17 \pm 3$  horas, mientras que la GPT tiene una vida media de  $42 \pm 11$  horas (Dufour, 1988). Los cambios enzimáticos que se observan en un daño hepático pueden explicarse fácilmente por las diferencias en los niveles de actividad hepática y en la vida media enzimática. En el caso de un daño hepatocelular agudo generado por paracetamol los niveles de GOT será mayor que los de GPT, debido a la elevada actividad de GOT en el hepatocito. Al cabo de 24 o 48 horas, aun persistiendo el daño, la GPT alcanza niveles mayores que la GOT, ya que su vida media es más larga.

La administración de la infusión de *J. rhombifolia* mejoró la disfunción hepática inducida por la administración de paracetamol como lo demuestra la restauración de la actividad de GOT y GPT en suero.

Otra enzima de localización hepática y que permitiría evaluar una patología hepática es la fosfatasa alcalina (FAL), pero al igual que las transaminasas, posee una múltiple localización a nivel orgánico y también la FAL se encuentra en huesos, placenta y en menor medida en intestino. Una elevación de FAL de origen hepático inferior de tres veces el valor normal puede deberse a un proceso hepático inespecífico (Kaplan y Brensilver, 1975). El tratamiento con *J. rhombifolia* (1000mg/kg) también

disminuyó significativamente los valores de FAL, respecto al lote tratado con Paracetamol.

El hígado juega un papel crucial en la regulación, síntesis, almacenamiento y secreción de proteínas, nutrientes y productos químicos (Wang *et al.*, 2017). El hígado es también el centro de la transformación metabólica de las drogas y otros xenobióticos y procesos desintoxicantes. El estrés oxidativo ha sido reconocido por desempeñar un papel crucial en el desarrollo y progresión de numerosas enfermedades crónicas del hígado por daño a las células del hígado, contribución a isquemia, regeneración, necrosis y apoptosis (Raskovic *et al.*, 2019).

La administración de paracetamol en dosis tóxicas sirve como un modelo bien establecido de estrés oxidativo y daño hepático agudo. En la aparición del estrés oxidativo, los antioxidantes endógenos reaccionan con los radicales libres para prevenir el daño oxidativo. La producción del metabolito tóxico NAPQI conduce a la rotura del grupo SH en ácidos nucleicos, proteínas y membranas, todo lo cual contribuye al daño hepático (Teofilovic *et al.*, 2021).

El agotamiento de GSH intracelular causado por un aumento de radicales libres aumenta la susceptibilidad del hígado al estrés oxidativo (Firozian *et al.*, 2020; Sohrabinezhad *et al.*, 2019).

Sustancias como los polifenoles, serían las responsables de reducir el estrés oxidativo en las células y así evitar el desarrollo de enfermedades (Wang, et al.2017). Los flavonoides contienen en su estructura química en un número variable de grupos hidroxilo fenólicos. Existen numerosas publicaciones acerca del efecto hepatoprotector de los flavonoides.

Se observaron actividades hepatoprotectoras en flavonoides aislados de *Laggera alata* contra la lesión inducida por tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) en hepatocitos de ratas neonatales en cultivo primario y en ratas con daño hepático. Los flavonoides a dosis orales de 50, 100 y 200 mg / kg redujeron significativamente los niveles de GOT, GPT, proteína total y albúmina en suero (Wu *et al.*, 2006).

Se ha informado que varios flavonoides como la catequina, apigenina, quercetina, naringenina, rutina y venoruton presentan actividades hepatoprotectoras (Tapas *et al.*, 2008).

Se estudiaron las propiedades hepatoprotectoras de una serie de flavonoides naturales (hesperidina de cáscara de cítricos, diosmina de *Vicia tanuifolia* Roth. y un análogo de diosmina de *Vicia truncatula* en ratas macho con un modelo de hepatitis CCl<sub>4</sub> aguda. El efecto se evaluó por la capacidad de estas sustancias para normalizar las características bioquímicas del estado funcional del hígado, en comparación con el fármaco de referencia carsil. La acción hepatoprotectora más pronunciada se observó para el análogo de diosmina administrado en una dosis de 100 mg / kg, que fue superior en algunos aspectos al hepatoprotector de referencia (Dorkina, 2004).

El glutatión se sintetiza a partir de los aminoácidos: cisteína, ácido glutámico y glicina. El SH (grupo sulfhidrilo de la cisteína sirve como donador de electrones y es responsable de la actividad biológica del GSH.

El glutatión se sintetiza en dos pasos dependientes del trifosfato de adenosina (ATP):

- La  $\gamma$ -glutamilcisteína se sintetiza a partir del L-glutamato y la cisteína a través de la enzima  $\gamma$ -glutamilcisteína sintetasa. Esta reacción es el paso limitante en la síntesis del GSH.
- La glicina se añade a la terminal C de la  $\gamma$ -glutamilcisteína, a través de la enzima glutatión sintetasa.

Los flavonoides incrementan el nivel de GSH intracelular (quercetina y otros) por incrementar la síntesis de la glutamilcisteína sintetasa.

Ishige *et al.* (2001) encontraron que los flavonoides protegen las células HT-22 y las neuronas primarias de rata de la toxicidad del glutamato, siendo tres mecanismos de protección distintos. Éstos incluyen el aumento de GSH intracelular, la reducción directa de los niveles de ROS y la prevención de la entrada de Ca<sup>2+</sup> a pesar de los altos niveles de ROS, mostrando el mecanismo de protección de los flavonoides frente a las agresiones.

Los polifenoles se encuentran entre los más importantes y caracterizados fitoquímicos antioxidantes no vitamínicos presentes en muchas verduras, frutas y

diversas hierbas medicinales. El ácido clorogénico, presente en *J. rhombifolia*, es uno de los polifenoles más abundantes y posee una reconocida capacidad antioxidante, previniendo el daño oxidativo. El efecto hepatoprotectivo del ácido clorogénico ha sido demostrado tanto en modelos con paracetamol como CCl<sub>4</sub>. El análisis de transaminasas y la evaluación histológica hepática demostraron la protección del ácido clorogénico contra la lesión hepática inducida por paracetamol. El tratamiento con ácido clorogénico disminuyó el aumento número de células apoptóticas hepáticas inducidas por paracetamol, de una manera dependiente de la dosis. Además, el ácido clorogénico revirtió la disminución de los niveles de glutatión reducido hepático reducidos en el hígado por acción del paracetamol. De esta manera, Ji *et al.*, (2013), demostraron que el ácido clorogénico contrarresta la lesión hepática inducida por paracetamol, previniendo la apoptosis y el daño por estrés oxidativo.

Los resultados obtenidos indican que la infusión de *J. rhombifolia*, obtenido por un modo de extracción simple, conveniente y ampliamente accesible, que se realiza fácilmente sin ningún equipo sofisticado, exhibe varias propiedades beneficiosas. El presente estudio demostró un potencial hepatoprotector significativo de la infusión indagada, en un modelo de lesión hepática inducida por paracetamol.

Finalmente, y volviendo al estudio de plantas medicinales y su uso terapéutico, es un compromiso para la comunidad científica, rescatar estos conocimientos, que constituyen mucho más que saberes tradicionales de las comunidades locales, y continuar validando su eficacia bajo minuciosos procesos de investigación, experimentación, control de efectos secundarios y toxicológicos, tendiente a lograr el uso adecuado de las plantas medicinales en la población.

### **Conclusión epistemológica**

Según lo propuesto por Samaja (2003), habiendo transcurrido la instancia de validación conceptual y la de validación empírica, se podría interpretar que, estos resultados contribuyen a la instancia de validación operativa, habiendo estudiado ciertas propiedades del material vegetal *J. rhombifolia*, como actividad hepatoprotector y como se trató en el capítulo anterior, con efecto gastroprotector y antiulceroso, pudiendo pasar luego a la validación expositiva, que permitirá dar lugar seguramente a nuevos interrogantes y revisión por parte de la comunidad científica.

Sin embargo, y consonantemente con lo afirmado por Hempel, si se reiteran los experimentos, recurriendo a la contrastación de diversas implicaciones, podría afirmarse por inducción que la hipótesis es probablemente verdadera, por ende, coloca al investigador “en una situación más satisfactoria que si no la hubiésemos contrastado” (Hempel, 1966, p.23). Aun así, es necesario destacar que su argumento no es ingenuo, por lo que él mismo llamó “la paradoja confirmacionista” que ocurre ampliamente en las ciencias fácticas donde la inducción es siempre incompleta (Mombrú Ruggiero, 2019).

En cuanto a la hipótesis sustantiva “La especie herbaria “*J. rhombifolia*” conocida popularmente como peje, posee propiedades medicinales”. Se debe seguir trabajando analógicamente con animales en la fase preclínica para poder pasar luego a la fase clínica, ver cómo actúa en las personas examinando de este modo si se trata de un medicamento adecuado y eficaz en el tratamiento de esta enfermedad, y con un adecuado perfil de seguridad, dado la gran cantidad de personas que utilizan actualmente estas plantas medicinales.

Concluyendo con lo planteado, en el presente trabajo, se pudo tomar en consideración que el confirmacionismo posee limitaciones, porque no se puede probar de manera absoluta los efectos como gastroprotector, antiulceroso y hepatoprotector de esta especie, siendo necesario continuar trabajando asiduamente en los mismos.

**Referencias bibliográficas**

- Adinortey, M.B., Ansah, C., Galyuon, I., Nyarko, A. (2013). *In-vivo models used for evaluation of potential antigastroduodenal ulcer agents*. *Ulcers: Article ID 796405*, 12 pages
- Almeida Schiavon, D.B. (2015). *Resgate etnobotânico de plantas medicinais e validação da sua atividade antibacteriana*. (PHD thesis). Universidade Federal de Pelotas, Brazil,
- Amieva, M.R., El-Omar, E.M. (2008) *Host-Bacterial Interactions in Helicobacter Pylori Infection*. *Gastroenterology* 134 (1): 306-323
- Alice, C.B., Vargas, V.M.F., Silva, G.A.A.B., de Siqueira, N.C.S., Schapoval, E.E.S., Gleye, J., Henriques, J.A.P., Henriques, A.T. (1991). *Screening of plants used in south Brazilian folk medicine*. *Journal of Ethnopharmacology* 35: 165-171.
- Alonso, J., Desmarchelier, C. (2015). *Plantas medicinales autóctonas de la Argentina. Bases científicas para su aplicación en atención primaria de la salud*. Corpus Libros Médicos y Científicos, Buenos Aires, Argentina.
- Alvarado Alva, J. C. (2003) *Apuntes de farmacología*, 3 edición. Callao, Perú : Apuntes Medicos de Peru, c2008-2009.
- Ambrosini, C., Beraldi, G. (2018). *Pensar la ciencia hoy*, 2ª edición. Editorial Educando, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Amuchástegui, A., Petryna, L., Cantero, J.J., Núñez, C. (2003). *Plantas parásitas del centro de la Argentina*. *Acta Botánica Malacitana* 28: 37-46.
- Arambarri, A.M., Novoa, M.C., Bayón, N.D., Hernández, M.P., Colares, M.N., Monti, C. (2011). *Anatomía foliar de arbustos y árboles medicinales de la región chaqueña semiárida de la Argentina*. *Dominguezia* 27 (1): 5-24.
- Alqasoumi S.(2012) *Anti-secretagogue and antiulcer effects of 'Cinnamon' Cinnamomum zeylanicum in rats*. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 4(4): 53-61.
- Arias Toledo, B., Galetto, L., Colantonio, S. (2007). *Uso de plantas medicinales y alimenticias según características socioculturales en Villa Los Aromos (Córdoba, Argentina)*. *Kurtziana* 33 (1) Volumen especial de Etnobotánica: 79-88.

- Arias Toledo, B., Galetto, L., Colantonio, S. (2009). Ethnobotanical knowledge in rural communities of Cordoba (Argentina): the importance of cultural and biogeographical factors. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 5: 40. Disponible en URL: <http://www.ethnobiomed.com/content/5/1/40>.
- Arias Toledo, B., Trillo, C. (2014). Animales y plantas que curan: avances sobre la farmacopea natural de los pobladores del área de Laguna Mar Chiquita. *Revista Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 1 (2): 77-85.
- Atay, S., Tarnawski, A., Dubois, A. (2000) Eicosanoids and the stomach. Prostaglandins Other. *Journal of Lipid Mediators* 61: 105-124.
- Azarmehr, N., Afshar, P., Moradi, M., Sadeghi, H., Sadeghi, H., Alipoor, B., Khalvati, B., Barmoudeh, Z., Abbaszadeh-Goudarzi, K., Doustimotlagh, A.H. (2019) *Hepatoprotective and antioxidant activity of watercress extract on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats*. *Heliyon* 5e 02072.
- Barboza, G.E., Cantero, J.J., Núñez, C., Pacciaroni, A., Ariza Espinar, L. (2009). *Medicinal plants: A general review, a phytochemical, and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora*. *Kurtziana* 34 (1-2): 7-365.
- Boelcke, O. (1989). *Plantas vasculares de la Argentina*. 2<sup>da</sup> reimp. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina.
- Brião, D., Artico, L.L., Lima, L.F.P., Menezes, A.P.S. (2016). Utilização de plantas medicinais em um município inserido no bioma pampa brasileiro. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde* 14 (2): 206-219.
- Broadhead, C.L., Combes, R.D. (1996). *Recommendations for the application of the three Rs to the regulatory toxicity testing of food additives*. *ATLA* 24: 467-472.
- Buenor Adinortey, M., Ansah, C., Galyuon, I., Nyarko, A. (2013) *In vivo models used for evaluation of potencial antigastroduodenal ulcers agents*. Hindawi Publishing Corporation *Ulcers*, 1-12.
- Cabrera, A.L. (1967). *Flora de la provincia de Buenos Aires*. Colección Científica INTA, Tomo IV, Buenos Aires, Argentina.
- Cabrera, A.T., Zardini, E.M. (1993). *Manual de la flora de los alrededores de Buenos Aires*. 2<sup>da</sup> Ed. ACME S.A.C.I., Buenos Aires, Argentina.



- Camacho Mora J.E. (2014). *Úlcera Péptica*. Revista Medica de Costa Rica y Centroamerica LXXI(609) 129-134.
- Campos, L. (2014). Diccionario de plantas medicinales. Del Nuevo Extremo, Buenos Aires, Argentina.
- Carosio, M.C., Junqueras, M.J., Andersen, A., Abad, S.M. (2008) *Árboles y arbustos nativos de la provincia de San Luis*, San Luis Libro, Gobierno de la Provincia de San Luis, Argentina.
- Carrizo, E. del V., Palacio, M.O., Roic, L.D. (2002). Plantas de uso medicinal en la flora de los alrededores de la ciudad de Santiago del Estero (Argentina). *Dominguezia* 18 (1): 26-35.
- Carrizo, E. del V., Palacio, M.O., Roic, L.D. (2005). Uso medicinal de algunas especies nativas en Santiago del Estero (República Argentina). *Dominguezia* 21 (1): 25-32.
- Chifa, C., Ricciardi, A. (2001) *Plantas de uso en medicina vernácula del centro del Chaco Argentino*, Miscelánea 117: 3-34, Fundación Miguel Lillo, Tucumán.
- Chifa, C., Ricciardi, A.I.A. (2004). *Evaluación etnofarmacológica de plantas usadas popularmente por las comunidades del Chaco argentino*. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, resumen E-003. Universidad Nacional del Nordeste. Available at URL: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2004/8-Exactas/E-003.pdf>
- Cook, M.J. (1965) *Mouse Genome Informatics*. The Anatomy of the laboratory mouse.
- Da Silva Junior I F, Balogun S O, Oliveira R G, Damazo A S, Oliveira Martins D T."(2016) *Piper umbellatum*. A medicinal plant with gastric-ulcer protective and ulcer healing effects in experimental rodent models. *Journal of Ethnopharmacology* 192: 123-131.
- De la Peña, M.R., Pensiero, J.F. (2004). *Plantas argentinas. Catálogo de nombres comunes*. L.O.L.A., Buenos aires, Argentina.
- Del Valle, M.E., Teves, M.R., Wendel, G.H., Prieto, J., Ruiz, E., Rosella, M.A. (2017). *Polifenoles presentes en corteza de Jodina rhombifolia (Hook. & Arn.) Reissek*

(*Santalaceae*). Libro de resúmenes 23° Congreso Farmacéutico Argentino y Jornadas Rionegrinas de Psicofármacos, póster: I&D48, disponible en URL: <http://congresos.cofa.org.ar/wp-content/uploads/2017/12/Indice-y-Resumenes-de-Trabajos-Cientificos-Final-27-de-nov-FINAL.pdf>.

Del Vitto, L.A., Petenatti, E.M., Petenatti, M.E. (2010). Ethnomedical plants from Cuyo region, Argentina: uses and conservational status, en: Pochettino, M.L., Ladio, A.H., Arenas, P.M. (Eds.), Traditions & Transformations in Ethnobotany, CYTED: Programa Iberoamericano Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, Argentina, pp. 223-229.

Demaio, P., Karlin, U.O., Medina, M. (2015). Árboles nativos de Argentina. Tomo 1: Centro y Cuyo. Ecoval, Córdoba, Argentina.

Díaz Casasola L. (2015) *Mucosa gástrica: mecanismos protectores y efectos dañinos del ácido acetilsalicílico. Enfoques fisiológico y bioquímico*. Medicina e Investigación 3(1): 100-103.

Dimitri, M.J. (1987). Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. 3ra ed. Tomo I, Vol. 1. ACME S.A.C.I., Buenos Aires, Argentina.

Dorkina, EG.(2004) *Investigation of the hepatoprotector action of natural flavonoids*. Eksp Klin Farmakol.67 (6):41-4.

Drucker Colin R. (2005) *Fisiología Medica*. El manual moderno. Edición, 1a Edición. Idioma español.

Duarte, S. (2021) Trabajo Final de Especialidad en Metodología de la Investigación Científica. UNLA, Buenos Aires Argentina.

Dufour, D.R. (1998) *Gender related differences in liver function and integrity tests*. Clin Chem 44: A 137.

Esplugues, J.V., Martí-Cabrera, M. (2014) Farmacología de la secreción gastrointestinal y de la ulceración mucosa digestiva. En: Farmacología Humana. (6ta Ed.) Flórez J, Armijo JA, 708-722.

- Falcão, H., Mariath, I., Diniz, M., Batista, L., Barbosa-Filho, J. (2008) *Plants of the american with antiulcer activity*. *Phytomedicine* 15 (1-2): 132-146.
- Fernández, P., Moreno González A., Leza Cerro J., Lizasoian Hernandez I., Moro Sanchez M., (2018) *Velázquez Farmacología Básica y Clínica*. 19a Ed.
- Feria, M. (2014) *Fármacos analgésicos antipiréticos y antiinflamatorios no esteroideos. Antiartríticos*. En: *Farmacología Humana Flórez*. 6º Edición. Elsevier Masson. Pp. 348-367.
- Fernandes, P. (2014). *Plantas medicinais: conhecimento e uso nos espaços rurais do planalto sul Catarinense*. (PHDthesis). Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil.
- Filipov, A. (1994). *Medicinal plants of the Pilagá of central Chaco*. *Journal of Ethnopharmacology* 44: 181-193.
- Firozian, F, Karami S, Ranjbar A, Azandaryani MT, Nili-Ahmadabadi A. (2020). *Improvement of therapeutic potential N-acetylcysteine in acetaminophen hepatotoxicity by encapsulation in PEGylated nano-niosomes*. *Life Sciences*, 255, Article 117832
- Furlán, V., Torres, C., Galetto, L. (2011). *Conocimiento y utilización de plantas medicinales por pobladores rurales del boque chaqueño serrano de Córdoba (Argentina)*. *Bonplandia* 20 (2): 285-307
- Galtung, J., (1968) *Teoría y método de la investigación social* (2 tomos), Eudeba, Buenos Aires.
- Ganesan, K., Banu, G.S., Pappa, P.V., Pandian, M.R. (2004) *Hepatoprotective activity of Trianthema portulacastrum L. against paracetamol and thioacetamide intoxication in albino rats*. *Journal of Ethnopharmacology* 92(1):37-40.
- Gaviria, M.; Correa Arango, G.y Navas M. C.(2016) “Alcohol, cirrhosis y predisposición genética” *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 31, 27-35.
- Gilani, A, Janbaz, K., Ahmad, S. (1992) *Hepatoprotective activity of Artemisia absinthium against paracetamol-induced hepatotoxicity*. En: *Natural drugs and the digestive tract*, editado por F. Capasso y N. Mascolo, EMSI, Roma.
- Giménez, A.M., Moglia, J.G., Hernández, P., Gerez, R. (2008). *La factibilidad de incrementar el valor de los bosques del Chaco mediante el aprovechamiento de la corteza forestal*. *Quebracho. Revista de Ciencias Forestales* 15: 9-14.

- Goleniowski, M.E., Bongiovanni, G.A., Palacio, L., Nuñez, C.O., Cantero, J.J. (2006). Medicinal plants from the “Sierra de Comechingones”, Argentina. *Journal of Ethnopharmacology* 107: 324-341.
- Goodman & Gilman.(2019) *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Ed: Brunton L.Mcgraw-Hill Interamericana editores. 12° edición.
- Graham, G.G., Scott, K.F., Day, R.O. (2005) *Tolerability of paracetamol*. *Drug Saf* . 28: 227– 240.
- Granada, D., Magariños Cervantes, A. (1890). *Vocabulario rioplatense razonado*. 2<sup>da</sup> Ed., Imprenta Rural, Montevideo, Uruguay.
- Grosser, T., Smyth, E.M., FitzGerald, G.A. (2009) *Farmacoterapia de inflamación, fiebre, dolor y gota*. En: Goodman & Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Brunton LL. 13° Edición. Mc Graw Hill Education.
- Guerrero Maldonado, N. (2008). *Uso y valoración de plantas medicinales y tintóreas presentes en Santiago del Estero, Argentina*. Final career Project, Universidad Politécnica de Madrid, España.
- Guyton, A.C., Hall, J.E. (2016) *Tratado de Fisiología Médica*, 13a edición, editorial Elsevier; Madrid.
- Gyires K, Zadori Z, Shujaa N, Minorics R, Falkay G, Matyus P. (2007) *Analysis of the role of central and peripheral  $\alpha_2$ -adrenoceptor subtypes in gastric mucosal defense in the rat*. *Neurochemistry International* 51: 289-296.
- Hall P A, Coates P J, Ansari B, Hopwood D.(1994) *Regulation of cell number in the mammalian gastrointestinal tract: the importance of apoptosis*. *Journal of Cell Science* 107: 3569- 3577.
- Halliwell B.(1991)*Introduction to free radicals in human disease*. *Saudi Medical Journal* 12:13-19.
- Hayes JD, JU Flanagan, IR Jowsey. (2005) *Glutathione transferases*. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 45, 51-88.
- Heisler, E., Budó, M., Schimith, M., Badke, M., Ceolin, S., Heck, R. (2015) *Uso de plantas medicinales en el cuidado de la salud: la producción científica de tesis y disertaciones de enfermería brasileña*. *Revista Enfermería Global*. Recuperado el 15 de junio de 2020  
<http://scielo.isciii.es/pdf/eg/v14n39/revision5.pdf>
- Hempel, C. (1996). *La explicación científica*. Paidós, Barcelona.
- Hempel, C. (2003). *Filosofía de la Ciencia Natural*. Alianza, Madrid.

- Hieronimus, J. (1882). *Plantae diaphoricae. Florae argentina.* Ed. Guillermo Kraft, Buenos Aires, Argentina.
- Hua X Y, Dahlen S E, Lundberg J M,(1985) *Hammerstrom S, Hedqvist P. Leukotrienes C4, D4, E4 cause widespread and extensive plasma extravasation in the guinea pig.* NaunynSchmiedeberg's Archives of Pharmacology 330:136-142.
- Hurrell, J.A., Ulibarri, E.A., Arenas, P.M., Pochettino, M.L. (2011). *Plantas de herboristería: plantas medicinales que se comercializan en herboristerías de la ciudad de Buenos Aires.* L.O.L.A., Buenos Aires, Argentina.
- Ineu, R.P., Pereira, M.E., Aschner, M., Nogueira, C.W., Zeni, G., Rocha, J.B. (2008) *Diphenyl diselenide reverses gastric lesions in rats: Involvement of oxidative stress.* Food and Chemical Toxicology 46(9): 3023-9.
- Ishige, K, Schubert D, Sagara Y. (2001) *Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms.* Free Radic Biol Med. 30(4):433-46.
- James, L.P., Mayeux, P.R., Hinson, J.A. (2003) *Acetaminophen-induced hepatotoxicity.* Drug Metab Dispos. (12):1499-506.
- Ji L, Jiang P, Lu B, Sheng Y, Wang X, Wang Z. (2013) Chlorogenic acid, a dietary polyphenol, protects acetaminophen-induced liver injury and its mechanism. *Journal of Nutritional Biochemistry* 24 .1911–1919.
- Khan, H.A. (2004) Computed assisted visualization and quantitation of experimental gastric lesions in rats. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 49(2): 89-95.
- Kaplan, M.M., Brensilver, H.L. (1975) *Significance of elevated liver alkaline phosphatase in serum.* Gastroenterology. 68: 1556.
- Karlin, M.S., Arnulphi, S.A., Karlin, U.O., Bernasconi Salazar, J.R., Accietto, R.H., Cora, A. (2017). *Plantas del centro de Argentina.* Ecoval Editorial, Córdoba, Argentina.
- Konturek S.J. (1990) *Role of growth factors in gastroduodenal protection and healing of peptic ulcers.* Gastroenterol Clin North Am 19:41–65.

- Kuijt, J., Hansen, B. (2015). Santalaceae. En: Kubitzky, K. (ed.): *The families and genera of vascular plants*. Flowering Plants, Eudicots 12: 143-164. Springer International Publishing, Switzerland.
- Klaassen, C.D. (2008) Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. 7<sup>th</sup> Ed. McGraw-Hill Education.
- Lahitte, H.B, Hurrell, J.A., Belgrano, M.J., Jankowski, L.S., Haloua, M.P., Mehlreter, K. (1998). *Plantas medicinales rioplatenses*. L.O.L.A., Buenos Aires, Argentina.
- Lahitte, H.B., Hurrell, J.A., Haloua, P., Jankowski, L.S., Belgrano, M.J. (1999). *Árboles Rioplatenses*. LOLA, Buenos Aires, Argentina.
- Lahon, K., Das, S. (2011) *Hepatoprotective activity of Ocimum sanctum alcoholic leaf extract against paracetamol-induced liver damage in Albino rats*. Pharmacognosy Research 3(1): 13.
- Larson, AM. (2007) Acetaminophen hepatotoxicity. Clin Liver Dis 11 (3): 525-528.
- Li, S., Gan, L.Q., Li, S.K., Zheng, J.C., Xu, D.P., Li, H.B., (2016). *Effects of herbal infusions, tea and carbonated beverages on alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase activity*. Food & Function 5: 42-49.
- Lima, Z.P., Calvo, T.R., Silva, E.F., Pellizzon, C.H., Vilegas, W., Brito, A.R.M.S., Bauab, T.M., HirumaLima, C.A. (2008) *Brazilian Medicinal Plant Acts on Prostaglandin Level and Helicobacter pylori*. Journal of Medicinal food 11(4): 701-708.
- Luna, M.L., de la Sota, E.R. (2003). Estructura foliar de *Jodina rhombifolia* (Santalaceae) y sus variaciones en relación al área de distribución. Iheringia 58 (1): 3-12
- Luna, M.L., Giudice, G.E. (2005). Anatomy of the haustorium of *Jodina rhombifolia* (Santalaceae). Nordic Journal of Botany 24: 567-573.
- Luna, M.L., Giudice, G.E., Grossi, M.A., Gutiérrez, D.G. (2017). *Development and morphology of the fruit and seed of the hemiparasite genus Jodina (Cervantesiaceae)*. Anales del Jardín Botánico de Madrid 74 (1): e051
- María, A.O.M., Franchi, A., Wendel, G., Gimeno, M., Guzmán, J., Giordano, O., Guerreiro, E. (1998) *Gastric cytoprotective activity of dehydroleucodine in rats. Role of prostaglandins*. Biological and Pharmaceutical Bulletin 21(4): 335-338.

- Martínez, G.J. (2005). Recolección y comercialización de plantas medicinales en el Departamento Santa María, Provincia de Córdoba, Argentina. *Acta Farmacéutica Bonaerense* 24 (4): 575-584.
- Martínez, G.J. (2007). Medicinal plants used by the criollos of Calamuchita to treat blood, cardiovascular and neuroendocrinous diseases. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* 13 (3): 55-82.
- Martínez, G.J. (2010). Los remedios naturales en la prevención y cuidado de la salud oral de los tobas del Chaco Central (Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 9 (2): 109-122.
- Martínez, G.J. (2011). *Uso de las plantas medicinales en el tratamiento de afecciones transmitidas por el agua en una comunidad Toba (Qom) del impenetrable (Chaco, Argentina): una perspectiva etnoecológica y sanitaria*. *Bonplandia* 20 (2): 329-352.
- Martínez, G.J. (2015). Las plantas en la medicina tradicional de las sierras de Córdoba. Detodoslosmares, Córdoba, Argentina.
- Martínez Crovetto, R. (1981). Las plantas utilizadas en medicina popular en el NO de Corrientes (República Argentina). *Miscelánea Fundación Miguel Lillo* 69: 1-139.
- Martínez Crovetto, R.N. (2014). Algunos datos sobre etnobotánica Mocoví. *Bonplandia* 23 (2): 119-131.
- Matsuda H, Li Y, Yoshikawa M.(1999) *Gastroprotections of escins Ia, Ib, IIa and IIb on etanol-induced gastric mucosal lesions in rats*. *European Journal of Pharmacology* 373: 63-70.
- MedlinePlus en español (2007) Bethesda (MD): Biblioteca Nacional de Medicina (EE. UU.). <https://medlineplus.gov/spanish/>.
- Meera, R., Devi, P., Kameswari, B., Madhumitha, B., Merlin, N. (2009) Antioxidant and hepatoprotective activities of *Ocimum basilicum* Linn. and *Trigonella foenum-graecum* Linn. against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and CCl<sub>4</sub> induced hepatotoxicity in goat liver. *Indian Journal of Experimental Biology* 47: 584–590.
- McGill, M.R., Williams, C.D., Xie, Y., Ramachandran, A., Jaeschke, H. (2012). *Acetaminophen-induced liver injury in rats and mice: Comparison of protein adducts, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the mechanism of toxicity*. *Toxicology and Applied Pharmacology* 264 (3): 387–394.

- Melchiorri, D., Sewerynek, E., Reiter, R.J., Ortiz, G.G., Poeggeler, B., Nistico, G. (1997) Suppressive effect of melatonin administration on ethanol-induced gastroduodenal injury in rats in vivo. *British Journal of Pharmacology* 121: 264-270.
- Mitchell, J.R., Jollow, D.J., Potter, W.Z., Gillette, J.R., Brodie, B.B. (1973) *Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. J Pharmacol Exp Ther.* 187: 211-7.
- Mombrú Ruggiero, A., Margetic A. (2013) *El hacedor de tesis.* Ediciones L.J.C., Avellaneda, Argentina.
- Mombrú Ruggiero, A., Piñeiro J. (2017) *Metodologías y epistemologías de la investigación*, 1ª edición Avellaneda, Argentina.
- Mombrú Ruggiero, A. (2019) *Metodologías y herramientas metodológicas.* Ediciones Avellaneda, Argentina.
- Montanha, J.A., Schenkel, E.P., Cardoso-Taketa, A.T., Dresch, A.P., Langeloh, A., Dallegrave, E. (2009). *Chemical and anti-ulcer evaluation of Jodina rhombifolia (Hook. & Arn.) Reissek extracts.* Brazilian Journal of Pharmacognosy 19 (1A): 29-32.
- Montesano, A. (1913). *Plantas medicinales (Extranjeras e Indígenas).* Imprenta Suiza de Imsand y Cía., Buenos Aires, Argentina.
- Mukerjee, M. (1997) *Trends in animal research.* Sci Am 2:70-77.
- Murriello, S., Arturi, M., Brown, A.D. (1993). Fenología de las especies arbóreas de los talares del este de la Provincia de Buenos Aires. *Ecología Austral* 3 (1): 25-31.
- Núñez, C., Cantero, J.J. (2000) *Las Plantas Medicinales del sur de la provincia de Córdoba*, Editorial de la Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.
- Oka, S., Ogino, K., Hobara, T., Yoshimura, H., Okazaki, Y., Takemoto, T., Ishiyaoa, H., Imaizumi, T., Yamasaki, K., Kanbe, T. (1990) Effects of carbenoxolone sodium on acute and chronic gastric ulcer models in experimental animal. *Digestive Diseases.* 21: 618-625.



- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2002). *Pautas generales para las metodologías de investigación y evaluación de la medicina tradicional*. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.
- Organización Mundial de la Salud (OMS), 2003. Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2013) *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023*.  
(<http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>)
- Pacho Saavedra, J.A., Pinol Jimenez, F.N. (2005) Estomatitis aftosa recurrente: Actualización. *Rev. Cubana Estomatol.* [en línea]. vol.42, n.1.
- Paredes, J. (2017) *Aportes para validar la acción farmacológica y potencial toxicidad de Aristolochia argentina, utilizada en la medicina popular*” (PHD Tesis). Universidad Nacional de San Luis, Argentina
- Peirce, C. (1988). *El hombre, un signo. El pragmatismo de Peirce* (J. Vericat, Trad., Introducción y Notas). Barcelona, España: Crítica.
- Pereira Leite, S., Cardoso Vieira, J.R., Lys de Medeiros, P., Pereira Leite, R.M. (2006) Antimicrobial Activity of *Indigofera suffruticosa*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 3(2): 261-265.
- Quiroga, A., Morláns, M.C., Reinoso Franchino, G., Romero, C., de la Orden, E.A. (2010). Especies de la flora vascular empleadas en medicina popular presentes en el refugio de vida silvestre “Merced de Allpatauca”. *Revista del CIZAS* 11 (2): 28-43.
- Raad, K. (2015) *Botiquín de emergencia con plantas medicinales*. 3ra Ed., Brujas, Córdoba, Argentina.
- Raskovic, A., Milanovic, I., Pavlovic, N., Cebovic, T., Vukmirovic, S., Mikov, M. (2014). Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 1–9.
- Raskovic, A., Cucuz V, Torovic L, Tomas A, Gojkovic-Bukarica L, Cebovic T, Hogervorst JC. (2019). Resveratrol supplementation improves metabolic

- control in rats with induced hyperlipidemia and type 2 diabetes. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(7), 1036–1043.
- Rashid, S., Ahmad, M., Zafar, M., Anwar, A., Sultana, S., Tabassum, S., Ahmed, S.N (2016) *Ethnopharmacological evaluation and antioxidant activity of some important herbs used in traditional medicines*. *Journal of Traditional Chinese Medicine* 36(5): 689-694.
- Ratera, E.L., Ratera, M.O. (1980) *Plantas de la flora argentina empleadas en medicina popular*. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina.
- Repetto, M.G., Llesuy, S.F. (2002) *Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 35(5): 523-34.
- Riat, P. (2016). Pequeños recorridos, grandes saberes: el conocimiento ecológico local compartido por niños y adolescentes en una escuela rural de Santiago del Estero, Argentina. *Bonplandia* 25 (2): 87-102.
- Riat, P., Pochettino, M.L. (2015). Los remedios del monte: vigencia del conocimiento fitoterapéutico local en Los Juríes (Santiago del Estero, Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 14 (2): 67-82.
- Ribeiro, R.V., Costa Bieski, I.G., Balogun, S.O., Oliveira Martins, D.T. (2017) *Ethnobotanical study of medicinal plants used by Ribeirinhos in the North Araguaia microregion, Mato Grosso, Brazil*. *Journal of Ethnopharmacology* 205: 69-102.
- Robert, A., Nezamis, J.E., Lancaster, C. (1979) *Cytoprotection by prostaglandins in rat prevention of gastric necrosis produced by alcohol, ClH, NaOH, hypertonic-NaCl and thermal injury*. *Gastroenterology* 77: 433-443.
- Rogers, Z.S., Nickrent, D.L., Malécot, V. (2008). *Staufferia* and *Pilgerina*: two new endemic monotypic arborescent genera of Santalaceae from Madagascar. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 95 (2): 391-404.
- Roic, L.D., Villaverde, A.A. (2007). *Flora popular santiagueña*. Universidad Nacional de Santiago del Estero, Argentina.

- Roig, F.A. (2001) *Flora medicinal mendocina. Las plantas medicinales y aromáticas de la provincia de Mendoza (Argentina)*, 1ra Ed., EDIUNC, Mendoza.
- Romeo, R.A. (2015). Plantas empleadas en medicina popular en la provincia de Jujuy. Departamento Capital y alrededores. *Dominguezia* 31 (2): 5-10.
- Romero Fernandez, W., Batista-Castro, Z., De Lucca, M., Ruano, A., García-Barceló, M., Rivera-Cervantes, M., García-Rodríguez, J., Sánchez-Mateos, S. (2016). *El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio*. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 33 (2): 288-299.
- Rosales Muñoz, C.G., Soria Fregozo, C., Pérez Vega, M.I., Cedillo Cruz, L.Y., Huacuja Ruiz, L., Miranda Beltrán, M.L. (2017) Efecto hepatoprotector de una mezcla de siete plantas en cirrosis inducida con tetracloruro de carbono. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 22 (1).
- Ruiz, M.I., Mercado, M.I., Ponessa, G.I. (2007). Morfología y anatomía foliar de *Jodina rhombifolia* (Hook. y Arn.) Reissek (Santalaceae). *Lilloa* 44 (1-2): 75-83.
- Russell, W.M.S., Burch, R.L. (1959) *The Principles of human experimental technique*. Methuen, London, United Kingdom.
- Salvemini D. (1997) *Regulation of ciclooxigenase by nitric oxide*. *Cellular and Molecular Life Sciences* 53: 576-582.
- Samaja, J. (2003) *Epistemología y Metodología, Elementos para una teoría de la investigación Científica*, 3ª Ed, Buenos Aires, Argentina.
- Scarpa, G.F, Rosso, C.N. (2014). La etnobotánica Moqoit inédita de Raúl Martínez Crovetto I: descripción, actualización y análisis de la nomenclatura indígena. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 49 (4): 623-647.
- Scarpa, G.F., Rosso, C.N., Anconatani, L. (2016). Etnobotánica médica de grupos criollos de Argentina: reconocimiento, análisis y puesta en valor de los datos presentados por el gobierno argentino en la exposición universal de París de 1889. *Darwiniana nueva serie* 4 (2): 291-315.
- Seixas de Oliveira, M.F. (2008). *Bebendo na raiz: um estudo de caso sobre saberes e técnicas mediciais do povo brasileiro*. (PHD thesis). Universidade de Brasilia, Brazil.

- Sharry, S., Abedini, W., Basiglio Cordal, M.A., Briones, V., Roussy, L., Stevani, R., Galarco, S., Adema, M. (2011). Food and medicinal value of some forest species from Buenos Aires (Argentina). *Emirates Journal of Food and Agriculture* 23 (3): 222-236.
- Sibila, V., Pagani, F., Lattuada, N., De Luca, V., Guidobono, F., Sogliani, A., Netti, C. (2007) Ticlopidine prevents the formation but delays the healing of ethanol-induced gastric lesions in the rat. *Pharmaceutical Research* 55: 418-425.
- Simões, C.M.O., Mentz, L.A., Schenkel, E.P., Irgang, B.E., Stehmann, J.R. (1998). *Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul*, 5<sup>ta</sup> Ed. Editora da Universidade, Porto Alegre, Brazil.
- Soberón, J.R., Sgariglia, M.A., Dip Maderuelo, M.R., Andina, M.L., Sampietro, D.A., Vattuone, M.A. (2014). Antibacterial activities of *Ligaria cuneifolia* and *Jodina rhombifolia* leaf extracts against phytopathogenic and clinical bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 118 (5): 599-605.
- Sohrabinezhad Z, Dastan D, Asl SS, Nili-Ahmadabadi A. (2019). *Allium jesdianum* extract improve acetaminophen-induced hepatic failure through inhibition of oxidative/nitrosative stress. *Journal of Pharmacopuncture*, 22(4), 239.
- Steibel, P.E., Troiani, H.O. (1996). Nombres vulgares de las plantas de la provincia de La Pampa. *Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Pampa* 9 (1): 81-100.
- Sumbul, S., Ahmad, M.A., Asif, M., Akhtar, M. (2011) *Role of phenolic compounds in peptic ulcer: an overview*. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* 3 (3): 361-367.
- Szabo, S. (2014) “*Gastric cytoprotection*” is still relevant. *J Gastroenterol Hepatol*. 29 (Suppl) 4: 124-132. <https://doi.org/10.1111/jgh.12735>
- Szabo, S, Goldberg I. (1990) *Experimental patogenesis: drugs and chemical lesion in the gastric mucos*. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 25(174): 1-8.
- Szabo, S, Szelenyi I. (1987) *Cytoprotection in gastrointestinal pharmacology*. *Trends in Pharmacology Sciences* 8(4): 149-154.
- Szabo,S. (1988) *Sulphydryl compounds may mediate gastric cytoprotection*. *Science* 214: 201-202.
- Takeeda, M, Hayashi Y, Yamato M, Muramaki M, Takeuchi K. (2004) Roles of endogenous prostaglandins and ciclooxygenase isoymes in mucosal defensa

- of inflamed rat stomach. *Journal of physiology and pharmacology* 55(1): 193-205.
- Tanaka, A., Araki, H., Komoike, Y., Hase, S., Takeuchi, K. (2001) *Inhibition of both COX-1 and COX-2 is required for development of gastric damage in response to noesteroidal anti-inflammatory drugs*. *Journal of Physiology - Paris* 95: 21-27.
- Tapas, R, D. M. Sakarkar, and R. B (2008) Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 7, pp. 1089–1099.
- Teofilovic, B, Tomas A, Martic N, Stilinovic N, Popovic M, Capo I, Grujic E, Ilincic B, Raskovic A.(2021) Antioxidant and hepatoprotective potential of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) extract in acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Functional Food*. 87.104783
- Teves, M.R. (2019). Validación de los efectos etnofarmacológicos de *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (SANTALACEAE). Evaluación de su potencial toxicidad. (PHD Tesis). Universidad Nacional de San Luis, Argentina.
- Teves, M.R., Wendel, G.H., Pelzer, L.E. (2015a) Reduction in voluntary ethanol intake following repeated oral administration of *Jodina rhombifolia* lyophilized aqueous extract in male Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 161:170–174.
- Teves, M.R., Wendel, G.H., Pelzer, L.E. (2015b) *Jodina rhombifolia* leaves lyophilized aqueous extract decreases ethanol intake and preference in adolescent male Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 174: 11-16.
- Teves, M.R., Rotelli, A.E., Wendel, G.H., Paredes, J.D., Giraudo, E., Petenatti, M.E., Pelzer, L.E. (2015c). Records of Medicinal Plants Utilized as Gastroprotective and for Treatment of Gastrointestinal Ulcers, Gastritis, and Heartburn in Argentina: A Survey of the Literature. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 21 (4): 333-371
- Teves, M.R., Pacheco, P.H., Bazán, C., Wendel, G.H. (2018) Diuretic activity of methanolic extracts from *Jodina rhombifolia* aerial parts on Wistar rats. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 6 (5): 402-411.
- Thomas, F., Mangan M D. (2006) *Peptic Ulcer Disease*. En: Stephen C. Hauser, M.D. Mayo Clinic Gastroenterology and Hepatology Board Review. Mayo

- Foundation for Medical Education and Research. Rochester. 2nd Edition: 49-56.
- Toso, R.E., Giraudo, M., Genero, G., Toribio, M.S., Boeris, M.A. (2010) Mechanism of action involved in the gastroprotective effect of plant extracts (abstract). *Primera Reunión Internacional de Ciencias Farmacéuticas (RICiFa 2010)*. Disponible en URL <http://ricifa.com.ar/wp-content/uploads/2018/06/Resumenes-2010.pdf> [acceso: 13.07.2020]
- Tortora, G J y Bryan Derrickson B. (2013) “*Principios de Anatomía y Fisiología,*” IF 13° Edición.
- Toursarkissian, M. (1980) *Plantas medicinales de la argentina. Sus nombres botánicos, vulgares, usos y distribución geográfica*, 1ra Ed., Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina.
- Trillo, C., Arias Toledo, B., Galetto, L., Colantonio, S. (2010). Persistence of the use of medicinal plants in rural communities of the Western Arid Chaco (Córdoba, Argentina). *The Open Complementary Medicine Journal* 2: 80-89.
- Tsukimi, Y., Okabe, S. (2001) *Recent advances in gastrointestinal pathophysiology: role of heat shock proteins in mucosal defensa and ulcer healing*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 24: 1-9.
- Vazquez Frias, R., Reyes García, J., Fernández del Valle, L.C., Anaya Reyes, M., Rizzoli Córdoba, A. (2013) *Silimarina, ácido alfa-lipoico y seleniomietionina en el tratamiento de hígado graso: revisión sistemática de la literatura*. *An Med Asoc Med Hosp ABC* 58 (1): 37-46.
- Verettoni, H.N. (1985). *Contribución al conocimiento de las plantas medicinales de la región de Bahía Blanca*. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.
- Vischi, N., Arana, M. (2002). *Utilidad de las plantas autóctonas del espinal*. Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina
- Wang, X., Wu, Q., Liu, A., Anadón, A., Rodríguez, J.L., Martínez-Larrañaga, M.R., Martínez, M.A. (2017). Paracetamol: Overdose-induced oxidative stress toxicity, metabolism, and protective effects of various compounds in vivo and in vitro. *Drug Metabolism Reviews* 49(4), 395–437.
- Wu, Y, Wang F, Zheng Q, Lu L, Yao H, Zhou C, Wu X, Zhao Y. (2006) “Hepatoprotective effect of total flavonoids from *Laggera alata* against carbon

tetrachlorideinduced injury in primary cultured neonatal rat hepatocytes and in rats with hepatic damage,” *Journal of Biomedical Science*, vol. 13, no. 4, pp. 569–578.

Ynoub, R. (2007) *El proyecto y la metodología de la investigación*, Buenos Aires, Argentina.

Ynoub, R. (2015) *Cuestión de Método. Aportes para una metodología crítica*. Editores S, A. de C.V., una Compañía de Cengage Learning Inc. Corporativo Santa 2015.

Zakaria, Z A, Zainol A S N, Sahmat A, Salleh N I, Hizami A, Mahmood N D, Nasir N, Mamat S S, Kamisan F H, Mohtarrudin N, Hamid S S A, Tohid S F, Teh L K, Salleh M Z. (2016) *Gastroprotective activity of chloroform extract of Muntingia calabura and Melastoma malabathricum leaves*. *Pharmaceutical Biology* 54(5): 812-826.

Zhang, Y, Sun H, Chen X, Li J, Zhao H, Geng L, Li B. (2016) *Functional profile of gastric epithelial cells infected with Helicobacter pylori strains*. *Microbial Pathogenesis* 95: 77-81.

Zapater, M.A. (1993). Flora del Valle de Lerma. Santalaceae. En: Novara, L.J. (Ed.), aportes botánicos de Salta, ser. Flora 2 (13), pp. 1-8

Zuloaga, F.O., Morrone, O., Belgrano, M.J., Marticorena, C., Marchesi, E. (Eds.), (2008). Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). *Monographs in Systematic Botany of the Missouri Botanical Garden* 107 (version on line).

<http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/fa.htm> [Acceso 12.06.2022]

# Anexos



**a) Protocolo para la determinación de la actividad citoprotectora gástrica de *Jodina rhombifolia* frente a diversos agentes necrosantes**

**PARA USO EXCLUSIVO DEL COMITÉ**

Protocolo N°:

Institución:

Válido desde: .../.../... hasta: .../.../...

**ACLARACIÓN**

- Los Protocolos para la realización de experimentos con animales se recibirán por Mesa de Entrada de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, la nota debe ir dirigida a la Decana Dra. Mercedes Campderrós y por su intermedio al Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales.

- Los protocolos para la realización de experimentos con animales utilizados en Docencia, tienen que ser presentados durante dos períodos del año, desde el 01 al 15 de Mayo y/o desde el 01 al 15 de Noviembre para realizar la experiencia en el segundo y primer cuatrimestre respectivamente.

- La solicitud de animales para experimentación deberá realizarse con tres meses de antelación, considerando los tiempos de gestación, crecimiento, cantidad y peso requerido.

- Para comunicarse con el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales nuestro e-mail es: [cicuaunsl@gmail.com](mailto:cicuaunsl@gmail.com)

Fecha: 12/04/2021

**PARTE I**

1. Responsable Principal (Titular del Proyecto o de Materia): APELLIDO – NOMBRE:  
Wendel, Graciela

Dpto.: Lab/Cát: Tel. Lab/Cát: Int.Tel. particular: Farmacología. Dpto. de Farmacia. Interno  
6162

e-mail: [gwendel@unsl.edu.ar](mailto:gwendel@unsl.edu.ar)

2. **Título del Protocolo:** Determinación de la actividad citoprotectora gástrica de *Jodina rhombifolia* frente a diversos agentes necrosantes

**Título del Proyecto:** Evaluación farmacológica y toxicológica de productos naturales.

3. Número de protocolo aprobado con anterioridad (si es que lo hubiera):

4. Personas que manipularán los animales de este Protocolo (indicar función con una X):

Nombre y Apellido	Depto. /lab.	Docente	Investigador	Técnico	Becario	Tesista	Estudiante
Wendel, Graciela	Farmacia		X				
Teves, Mauricio	Farmacia		X				
Duarte, Silvia Raquel	Enfermería				X	X	

5. **Ente Financiado** (marcar con una X):

UNSL  CONICET  Otro (especificar):

6. **Naturaleza del Trabajo** (marcar con una X):

**Investigación** Proyecto nuevo: Continuidad proyecto:  Prueba piloto:

**Tesis**. Licenciatura Doctorado Maestría:

**Enseñanza** de grado postgrado N° de estudiantes

**Supervisado por** (marcar con una X): Titular  Otro (nombre/cargo):

**Los estudiantes** (marcar con una X): manipularán no manipularán animales

Diagnóstico (marcar con una X): por Servicio/convenio Rutina  Ocasional

7. **Duración estimada (MÁXIMO 1 AÑO)**: Fecha inicio: 03/08/21 Fecha finalización: 06/08/21

8. **Animales**:

Especie	Cepa	Edad	Sexo	Peso	Cant.	Procedencia
Rata	Wistar	2 meses	Ambos	180-200 g	24	Bioterio

9. **Tratamiento** (marcar con una X): Agudo (no sobreviven)  Crónico (duración máxima de sobrevida):

10. **Categoría de Invasividad** (encerrar con un círculo según corresponda): A B **X** C D  
E

## **PARTE II**

1. **Síntesis de los objetivos del experimento:** (no más de 300 palabras)

Se emplearán ratas Wistar, de ambos sexos, con ayuno de 24 horas. Se administrará la infusión de *Jodina rhombifolia* (1000 mg/kg, v.o.). Luego de una hora se administrarán los distintos agentes necrosantes: ácido clorhídrico, cloruro de sodio e hidróxido de sodio (ClH 0.6 N, NaCl 25%, y NaOH 0.2 N) en los respectivos lotes (n=8) (Robert y col., 1979). Una hora después de la administración de los agentes necrosantes se eutanizarán los animales. Luego de la eutanasia se removerán los estómagos y se evaluará el grado de erosión utilizando el software Image J (NIH)

2. **Resumen de maniobras experimentales** (Responda **todos** los items. Cuando la respuesta sea **SI(X)**, por favor brinde información detallada en el espacio inferior).

- A.- INMOVILIZACIÓN (física, química, método, duración) **X**
- B.- PROCEDIMIENTOS NO INVASIVOS (tipo, duración, frecuencia, efectos clínicos esperados)
- C.- PROCEDIMIENTOS INVASIVOS (tipo, duración, frecuencia, efectos clínicos esperados)
- D.- PRIVACIONES (tipo, duración, frecuencia, efectos esperados)
- E.- ADMINISTRACIÓN DE AGENTES (producto o compuestos, dosis, vías, frecuencia, efectos clínicos esperados) **X**
- F.- ANESTÉSICOS (tipo, nombre, frecuencia)
- G.- BLOQUEANTES NEUROMUSCULARES (propósito, tipo)
- H.- MANEJOS ESPECIALES (dietas, cuidados particulares)
- I.- OTRO (Maniobras no comprendidas en los anteriores)

**Serán realizados por** (marcar con una X): Docente/Equipo de investigación **X** Personal del Bioterio

**Detalles de las respuestas anteriores:**

Se inmovilizará el animal para realizar las administraciones detalladas anteriormente

3. **Dolor o distres esperado** (marcar con una cruz en cada ítem que corresponda)

Nulo                      Leve    **X**                      Moderado                      Alto

Durante la sujeción  durante los procedimientos  
 Inmediatamente después de cirugía durante la convalecencia  
 a largo plazo

#### 4. Medidas para aliviar el dolor:

NO Razones:

SI (Especificar agente, vías, dosis y momento de aplicación)

#### 5. Método de Eutanasia

**Realizado por:** Investigadores

**Metodología utilizada:** Dióxido de Carbono

### PARTE III

#### 1. Riesgos para el personal o para la población animal del Bioterio

Sin Riesgo

Riesgo Potencial: Químicos:

Biológicos:

Radiactivo:

Cancerígeno:

Describir:

**Riesgo:**

#### 2. Medidas para disminuir el riesgo:

### PARTE IV

#### 1. Personas a contactar en caso de emergencias fuera de horario:

Nombre: Wendel, Graciela Tel. Lab/Cát:: Int.  
 6162 Tel. particular: 4455891-2664200687

Alternativo: Tel. Lab/Cát:: Int. Tel.  
 particular:

#### 2. Se acompaña hoja de instrucciones para sucesos imprevistos o emergencias:

SI NO



**b) Aprobación de protocolos de experimentación otorgado por el Comité Institucional de cuidado y uso de Animales (CICUA) Res 99/21 y Res 100/21**



2021- "AÑO DE HOMENAJE AL PREMIO NOBEL DE MEDICINA  
DR. CÉSAR MILSTEIN"

SAN LUIS, **32 JUN 2021**

**VISTO:**

El EXP-USL: 4583/2021, mediante el cual la Coordinadora del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (C.I.C.U.A.) eleva la nómina de Protocolos de Experimentación Aprobados durante el año 2020, y

**CONSIDERANDO:**

Que los Docentes Investigadores en cumplimiento de las Ordenanzas vigentes han presentado los Protocolos de Experimentación con Animales en tiempo y forma.-

Que el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (C.I.C.U.A.) ha revisado, aprobado y elevado dichos Protocolos a la Facultad.-

Que se considera importante su protocolización ya que la mayoría de los Docentes-Investigadores necesitan contar con la misma para publicar en revistas de ámbito Nacional e Internacional.-

Que la Secretaría de Ciencias y Técnica de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, recomienda su aprobación y protocolización.

Que en la Sesión Virtual Ordinaria del 7 de Junio del corriente año, el Consejo Directivo aprobó por unanimidad la lista de Protocolos de Experimentación con Animales durante el año 2020.-

Por ello y en uso de sus atribuciones,

**EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE  
QUÍMICA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**RESUELVE:**

**ARTÍCULO 1°.-** Aprobar la nómina de Protocolos de Experimentación realizados durante año 2020, por Docentes- Investigadores de esta Facultad, según consta en el Anexo Único de la presente disposición.-

**ARTÍCULO 2°.-** Comuníquese, insértese en el Libro de Resoluciones de la Facultad publíquese en el Digesto Administrativo de la Universidad y archívese.-

**RESOLUCIÓN Nº 99-21**

Dr. Mariana Lidia Casperino  
Directora  
Fac. Qca. Bioq. y Farmacia  
UNSL

c) Autorización para realizar investigación sobre la especie vegetal *Jodina rhombifolia*



Universidad Nacional de San Luis  
Facultad de Química Bioquímica  
y Farmacia

2021- "AÑO DE HOMENAJE AL PREMIO NOBEL DE MEDICINA  
DR. CÉSAR MILSTEIN"

BIOQ-345/ 20	0003822/202 0	Davicino, Roberto	Rol de la desglucosilación de proteínas de superficie de macrófagos peritoneales murinos en la inmunoopatología de la infección con <i>Yersinia enterocolitica</i>	Davicino, Roberto	Obtención macrófagos peritoneales
BIOQ-345 R1/20	0003822/202 0	Davicino, Roberto	Rol de la desglucosilación de proteínas de superficie de macrófagos peritoneales murinos en la inmunoopatología de la infección con <i>Yersinia enterocolitica</i>	Davicino, Roberto	Obtención macrófagos peritoneales
F-346/20	4036/2020	Wendel, Graciela	Evaluación Farmacológica y Toxicológica de Productos Naturales	Paredes, Jélica	Estudio de la toxicidad a dosis repetidas de <i>Triplodactylus flagellatus</i> en rata
F-347/20	4036/2020	Wendel, Graciela	Evaluación Farmacológica y Toxicológica de Productos Naturales	Paredes, Jélica	Estudio de la actividad citoprotectora gástrica de <i>Triplodactylus flagellatus</i> en rata
F-348/20	4061/2020	Wendel, Graciela	Evaluación Farmacológica y Toxicológica de Productos Naturales	Teves, Mauricio	Estudio de la actividad citoprotectora gástrica de <i>Jodina rhombifolia</i> en rata
BIOQ-349/ 20	7788/2020	Di Genaro, María Silvia	Evaluación del efecto de los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) en artritis reactiva	Di Genaro, María Silvia	Efecto de ISRS sobre la severidad de ARt en ratones TNFRp55-/-
BIOQ-350/ 20	7788/2020	Di Genaro, María Silvia	Evaluación del efecto de los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) en artritis reactiva	Di Genaro, María Silvia	Estudiar el perfil anti-inflamatorio de las DCs y plaquetas en los ratones TNFRp55-/- tratados con ISRS



Universidad Nacional de San Luis  
Facultad de Química Bioquímica  
y Farmacia

2021- "AÑO DE HOMENAJE AL PREMIO NOBEL DE MEDICINA  
DR. CÉSAR MILSTEIN"

SAN LUIS, **22 JUN 2021**

**VISTO:**

El EXP-USL: 5493/2021, mediante el cual la Coordinadora del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (C.I.C.U.A.) eleva la nómina de Protocolos de Experimentación Aprobados durante los meses de enero a mayo del 2021, y

**CONSIDERANDO:**

Que los Docentes Investigadores en cumplimiento de las Ordenanzas vigentes han presentado los Protocolos de Experimentación con Animales en tiempo y forma.-

Que el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (C.I.C.U.A.) ha revisado, aprobado y elevado dichos Protocolos a la Facultad.-

Que se considera importante su protocolización ya que la mayoría de los Docentes-Investigadores necesitan contar con la misma para publicar en revistas de ámbito Nacional e Internacional.-

Que la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, recomienda su aprobación y protocolización.

Que en la Sesión Ordinaria Virtual, del 7 de Junio del Corriente año el Consejo Directivo aprobó por unanimidad la lista de Protocolos de Experimentación con Animales.-

Por ello y en uso de sus atribuciones,

**EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE  
QUÍMICA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**RESUELVE:**

**ARTÍCULO 1º.-** Aprobar la nómina de Protocolos de Experimentación realizados durante los meses de enero a mayo del 2021, por Docentes- Investigadores de esta Facultad, según consta en el Anexo Único de la presente disposición.-

**ARTÍCULO 2º.-** Comuníquese, insértese en el Libro de Resoluciones de la Facultad publíquese en el Digesto Administrativo de la Universidad y archívese.-

**RESOLUCIÓN Nº 100-21**

Dr. Marcelo Esteban Guzmán  
Decano  
Fac. Quím. Bioq. y Farmacia  
UNSL



Universidad Nacional de San Luis  
Facultad de Química Bioquímica  
y Farmacia

2021- "AÑO DE HOMENAJE AL PREMIO NOBEL DE MEDICINA DR. CÉSAR MI"

**ANEXO UNICO**

**AÑO 2021- PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN APROBADOS**

Nº Protocolo	Expediente	Director de Proyecto	Nombre del Proyecto	Responsable de Protocolo	Nombre de Protocolo
BIOQ-222/21	1113/2021	Dra. Myriam FORNERIS	Interacción de mecanismos de regulación en la fisiología y fisiopatología de la reproducción	Dra. Myriam FORNERIS	Regulación neuroinmunoendocrina de adenohipofisis y útero en la poliquilosis ovárica en rata. Participación de los macrófagos y del nervio ovárico superior
BIOQ-302/21	2217/2021	Dra. Ana Cecilia ANZULOVICH	Bases cronobiológicas del envejecimiento y enfermedades Asociadas.	Dra. Estelina CARGNELLI	Denervación química esplénica.
BIOQ-355/21	1576/2021	Dra. Ana Cecilia ANZULOVICH	La obesidad en adulto predispone al desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Perfil de biomarcadores isotérmicos que alertan sobre la aparición de la enfermedad.	Dra. Ana Cecilia ANZULOVICH	Modelo nutricional de Obesidad-Enfermedad de Alzheimer
BIOQ-356/21	993/2021	Dr. Sergio Eduardo ALVAREZ	Resistencia a vemurafenib y modulación de la respuesta inmune en melanoma a través de la activación del eje GAL9/TIM-3	Dr. Sergio Eduardo ALVAREZ	Resistencia a vemurafenib y modulación de la respuesta inmune en melanoma a través de la activación del eje GAL9/TIM-3
F-357/21	2391/2021	Dra. Graciela WENDEL	Evaluación Farmacológica y Toxicológica de Productos Naturales	Dra. Graciela WENDEL	Determinación de la actividad citoprotectora gástrica de <i>Jodina rhombifolia</i> frente a diversos agentes necrosantes
F-358/21	2391/2021	Dra. Graciela WENDEL	Evaluación Farmacológica y Toxicológica de Productos Naturales	Dra. Graciela WENDEL	Estudio de la actividad citoprotectora gastroduodenal de <i>Jodina rhombifolia</i>
F-359/21	2391/2021	Dra. Graciela Wendel	Evaluación Farmacológica y Toxicológica de Productos Naturales	Dra. Graciela Wendel	Estudio de la actividad hepatoprotectora de <i>Jodina rhombifolia</i>

CORRESPONDE RESOLUCION N°

100-21

*[Handwritten signature]*  
María José Campese  
Directora  
Fac. de Quím. y Farmacia  
UNSL

*[Handwritten signature]*





Universidad Nacional de San Luis  
Facultad de Química Bioquímica  
y Farmacia

2021- "AÑO DE HOMENAJE AL PREMIO NOBEL DE MEDICINA DR. CÉSAR MILSTEIN"

-2-

III...

F-360/21	2391/2021	Dra. Graciela Wendel	Evaluación Farmacológica y Toxicológica de Productos Naturales	Dra. Graciela Wendel	Estudio del mecanismo de acción en la actividad citoprotectora gástrica de <i>Judina rhombifolia</i>
BIOQ-361/21	2408/2021	Dra. Verónica Biaggio	Efectos de la obesidad materna en la función placentaria y en el desarrollo fetal. Implicancia de la suplementación con zinc	Dra. Verónica Biaggio	Efectos de la obesidad materna en la función placentaria y en el desarrollo fetal. Implicancia de la suplementación con zinc
BIOQ-362/21	1228/2021	Dra. Verónica Filippa	¿La vitamina C protege a las células gliales del cerebelo de ratones expuestos prenatal y posnatalmente a etanol?	Dra. Verónica Filippa	Administración de etanol y vitamina C a ratones C57BL/6.
BIOQ-363/21	1401/2021	Dra. Alba Edith Vega	Estudios metabólicos, moleculares e inmunológicos de bacterias de interés clínico y ambiental.	Dra. Alba Edith Vega	Análisis de citotoxicidad, hepatotoxicidad y nefrotoxicidad de péptidos antimicrobianos sintéticos utilizados para inhibir el crecimiento de <i>E. coli</i> O:157H:7.
BIOL-364/21	1610/2021	Dr. Fabricio Cid	Contaminación Ambiental y su impacto sobre la Fauna Silvestre	Dr. Fabricio Cid	Estudio comparativo del efecto de pesticidas de preocupación emergente en aves y anfibios silvestres.
BIOQ-365/21	2129/2021	Dr. Dario Ramirez	Impacto de la obesidad-inducida por la dieta sobre la resistencia a la insulina	Dr. Dario Ramirez	Efecto metabólico del aceite de oliva en una dieta hipercalórica.
BIOQ-366/21	2131/2021	Dr. Dario Ramirez	Mecanismos moleculares y terapéuticos de la inflamación del tejido adiposo y pulmonar en obesidad	Dr. Dario Ramirez	Producción de anticuerpos policlonales en conejos.

CORRESPONDE RESOLUCION N°

100-21

...III

**c) Autorización para realizar investigación sobre la especie vegetal *Jodina rhombifolia***

Ministerio de Medio Ambiente  
San Luis

RESOLUCIÓN N° 588 -1-  
SAN LUIS, veintiocho de octubre de dos mil catorce -

**VISTO:**

El Expediente Administrativo que tramita bajo el número 0000-10230092/14 caratulado "EL SR. MAURICIO ROBERTO TEVES SOLICITA AUTORIZACIÓN PARA REALIZAR INVESTIGACIONES", y la Resolución N° 3-PRN-2011, y;

**CONSIDERANDO:**

Que a fs. 1/2 obra presentación de la Dra. LILIAN EUGENIA PELZER, DNI N° 5.576.366, solicitando autorización para realizar investigaciones en la jurisdicción de la provincia de San Luis;

Que, la ley N° IX-0317-2004 faculta al Programa Biodiversidad a determinar las condiciones de autorización de investigaciones científicas dentro del territorio de la Provincia de San Luis;


Que, es función del área Biodiversidad posibilitar la realización de tareas que contribuyan a aumentar el conocimiento científico de las especies y ecosistemas de la Provincia;

Que, la documentación presentada por la solicitante, contiene los elementos necesarios que estipula la Resolución N° 3-PRN-2011 en cuanto a requerimientos para autorizar investigaciones científicas;

Que, la profesional solicitante y el proyecto presentado se encuentran avalados por la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de San Luis;

Que, el objetivo general del proyecto es investigar extractos de plantas regionales y/o metabolitos aislados a partir de las mismas, en base a datos empíricos de la medicina tradicional, a fin de validar su utilización popular mediante técnicas experimentales de laboratorio y/o atribuir acciones con efecto sobre procesos inflamatorios, digestivo y alcoholismo;

Que, la información aportada por el proyecto permitirá aumentar el conocimiento sobre las plantas medicinales de la Provincia, fortaleciendo la medicina tradicional, dando sustento científico a esta práctica y avalando la seguridad de su aplicación;



*San Luis*

RESOLUCIÓN N° 588 -PBD-2014

SAN LUIS, veintiocho de octubre de dos mil catorce.-

Que, el proyecto requiere de la colecta de partes vegetales (hojas, floema, corteza, ramas, rizomas) de las especies *Jodina rhombifolia* y *Aristolochia argentina*;

Que, los métodos de colecta a utilizar no representan ningún riesgo para las poblaciones silvestres de las especies involucradas ni para su entorno;

Que, las muestras colectadas tienen como finalidad la preparación de soluciones extractivas para la realización de estudios farmacológicos y toxicológicos;

Que, las colectas se realizarán en propiedades privadas de las localidades de Fraga y Lujan;

Por ello, y en uso de sus atribuciones,

EL SEÑOR JEFE DEL PROGRAMA BIODIVERSIDAD

RESUELVE:

Artículo 1º.- AUTORIZAR a la Dra. LILIAN EUGENIA PELZER, DNI N° 5.576.366, al Sr. MAURICIO ROBERTO TEVES, DNI N° 21.950.561 y la Sra. Jessica Daniela Paredes, DNI N° 31.717.023, a colectar partes vegetales de ejemplares de los géneros *Jodina rhombifolia* y *Aristolochia argentina*, en tierras privadas de las localidades de Fraga y Lujan de la Provincia de San Luis.-

Artículo 2º.- Los especímenes y/o muestras obtenidos en ejercicio de la presente Autorización, así como los derivados obtenidos por cualquier técnica molecular o de otro tipo, no podrán ser aprovechados con fines comerciales. La presente se otorga exclusivamente con fines de investigación científica para estudios farmacológicos y toxicológicos y excluye toda utilización, transferencia o disposición de los recursos

*A*

AL MEDIO

*Ministerio de Medio Ambiente  
San Luis*

RESOLUCIÓN N° 588 -PBD-2014  
SAN LUIS, veintiocho de octubre de dos mil catorce.-

biológicos y/o genéticos, o sus productos derivados, con fines de uso comercial o industrial.-

Artículo 3º.- Los autorizados deberán comunicar por escrito al Programa Biodiversidad, con al menos una semana de antelación a la realización de cada campaña, la fecha, tiempo de permanencia, tareas y los datos personales (nombre, apellido, DNI y función en el grupo) de las personas que integran el equipo de esa campaña.-

Artículo 4º.- La Autoridad de Aplicación se reserva la facultad de realizar todas las auditorias que considere necesarias, a tales efectos podrá ordenar el acompañamiento de veedores a los cuales los autorizados deberán facilitar las tareas de control y fiscalización.-

Artículo 5º.- Los autorizados deberán comunicar al Programa Biodiversidad el hallazgo de restos fósiles, improntas vegetales o animales o cualquier otro objeto, resto, pieza, parte o demás elementos de material susceptible de ser analizado por su valor paleontológico o arqueológico, estando prohibida su remoción sin la autorización expresa emitida por la Autoridad de Aplicación, quien determinará también la conveniencia o no de su devolución una vez realizados los estudios correspondientes.-

Artículo 6º.- Los autorizados deberán presentar cada seis (6) meses a la Autoridad de Aplicación, un informe de avance del proyecto presentado y copias de todas las publicaciones que deriven del trabajo realizado en la Provincia.-



ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL



Ministerio de Medio Ambiente  
San Luis

-4-  
RESOLUCIÓN N° 588 -PBD-2014  
SAN LUIS, veintiocho de octubre de dos mil catorce.-

- Artículo 7°.-** No se permite bajo ningún concepto la extracción de ejemplares o sus partes, de ningún elemento de la biodiversidad local.-
- Artículo 8°.-** La presente Autorización deberá ser exhibida en toda circunstancia que sea requerida por las autoridades provinciales.-
- Artículo 9°.-** Cualquier violación por acción u omisión a la normativa vigente y la realización de actividades que atenten contra la conservación del patrimonio cultural o natural de las áreas a muestrear, será motivo de la cancelación del presente permiso y de comunicar por escrito los hechos a las entidades que avalan al solicitante y al proyecto, sin detrimento de la consecución de acciones judiciales que no pudieran emprender.-
- Artículo 10°.-** La presente Resolución, tendrá vigencia hasta el 31 de diciembre de 2015, debiendo posteriormente ser actualizada mediante nueva solicitud del investigador responsable.-
- Artículo 11°.-** Con copia de la presente Resolución, notificar a la solicitante, registrar y oportunamente archivar.-



  
Ing. JORGE ANDRÉS HEIDER  
Jefe de Programa Biodiversidad

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

**d)Resultados parciales publicados en eventos científicos y mención especial**



**Abstracts of the  
XXXIX Annual Meeting**

**San Luis (virtual),  
December 6th and 7th, 2021**

**EVALUATION OF HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek ON PARACETAMOL-INDUCED HEPATOTOXICITY IN RATS**Duarte SR<sup>1</sup>, Teves MR<sup>2</sup>, Wendel GH<sup>2</sup><sup>1</sup>Enfermería, Facultad de Ciencias de la Salud. <sup>2</sup>Farmacología, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis. San Luis, Argentina. E-mail: gwendel@unsl.edu.ar

*Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae) is a small perennial hemiparasit tree, popularly known as "peje", "quebrachillo", "quebracho flojo", "sombra de toro". This species is utilized in Argentine folk medicine for a great diversity of health problems as anti-alcoholic, digestive, antidiarrheic, anti-inflammatory, hepatoprotective, hypotensor, among others. The major chemical constituents of leaves of *J. rhombifolia* are phenolic compounds, organic acids, tannins, flavonoids, steroids, gums, and mucilage; the extract of its leaves revealed the presence of C-glycosyl flavonoids. The present study was carried out to determine the effect of the *J. rhombifolia* lyophilized extract (JRLE) on experimental liver damage induced by paracetamol. The medicinal plant was collected in the San Luis Province, Fraga locality, "Los Chañares" establishment. Infusion to 10% was prepared following the methodology outlined in the VI Edition Argentine National Pharmacopoeia and lyophilized to preserve it. Wistar rats (180–200 g) were divided into five groups (N = 6–8). The JRLE was redissolved in distilled water just before administration. The JRLE (at doses of 500 and 1000 mg/kg) and silymarin (200 mg/kg) were given orally to respective groups once daily for 3 days. On the third day, paracetamol (640 mg/kg, v.o.) was administered to all groups except control, one hour after the respective treatment with JRLE, silymarin and vehicle. After 24 hours of paracetamol administration, blood was collected, and serum was analyzed for biochemical parameters: aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and alkaline phosphatase (ALP). A liver index was calculated by the following equation: Liver index (%) = (liver weight/body weight) × 100. Administration of paracetamol to rats caused significant liver damage, as evidenced by the altered serum biochemical parameters ( $P < 0.01$  vs. control). Pretreatment of rats with JRLE exhibited significant ( $P < 0.001$ ) reduction in the paracetamol-induced increase in the levels of AST and ALT. Moreover, treatment with JRLE (1000 mg/kg) before induction of hepatotoxicity significantly lowered the ALP parameter. The liver weight and liver index in the JRLE (1000 mg/kg) + paracetamol group was lower than those in the paracetamol group ( $P < 0.01$ ). The hepatoprotective activity of JRLE (1000 mg/kg) was comparable with the standard silymarin. The rise in serum levels of transaminases has been attributed to the damaged structural integrity of the liver. Several flavonoids are reported for their hepatoprotective activities. These compounds could be responsible for the hepatoprotective activity. These results contribute to the scientific validation of the hepatoprotective indication of this botanic species in Argentine folk medicine.

# **Libro de Resúmenes**

## **XXXIX Reunión Científica Anual de la**



**Sociedad de Biología de Cuyo**  
**06 y 07 de Diciembre**  
**de 2022**

---



**049- EVALUATION OF GASTROPROTECTIVE EFFECT OF *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek**

Duarte SR<sup>1</sup>, Paredes JD<sup>2</sup>, Teves MR<sup>2</sup>, Wendel GH<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Enfermería, Facultad de Ciencias de la Salud. <sup>2</sup>Farmacología, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis. San Luis, Argentina. E-mail: gwendel@unsl.edu.ar

*Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae) is a small perennial hemiparasitic tree, popularly known as "Peje", "Quebrachillo", "Quebracho flojo", "Sangre de toro", "Sombra de toro". This species is utilized in Argentine folk medicine for a great diversity of health problems as: anti-alcoholic, digestive/stomach, anti-ulcer, gastritis, antidiarrheic, anti-inflammatory, hepatoprotective, hypotensor, among others. The major chemical constituents of leaves of *J. rhombifolia* are phenolic compounds, organic acids, tannins, flavonoids, steroids, gums and mucilagines; the extract of its leaves revealed the presence of C-glycosyl flavonoids. The aim of this study was to assess the gastroprotective effect of the *J. rhombifolia* leaves lyophilized aqueous extract (JRLE) on experimental ulcers and mechanism in rats. The medicinal plant was collected in "Los Chañares" establishment, in the Fraga locality, San Luis Province. Infusion to 10% was prepared following the methodology outlined in the VI Ed Argentine National Pharmacopoeia and then lyophilized to preserve it. The JRLE was redissolved in distilled water just before oral administration. In all protocols (Approved protocol N° F-348/20, F-357/21 and F-360/21), Wistar rats (180-200 g, n=6-8) fasted 24 h prior to treatments. JRLE was investigated by using various *in vivo* ulcer models. The stomachs were removed and inspected for lesions in the glandular portion. A scanner examined the specimens and the scanned images were analyzed by using a program developed by the National Institutes of Health (Image J 1.46r). The role of prostaglandins (PG), sulfhydryl groups (SH) and nitric oxide (NO) were evaluated. Oral pretreatment with JRLE (250, 500 and 1000 mg/kg) produced significant decrease in the intensity of gastric mucosal damage induced by ethanol ( $p < 0.001$  vs. ethanol); damage inhibition (%): 44.08, 59.28 and 90.41 (dose dependent). Moreover, JRLE prevented damage induced by others ulcerogenic agents: CIH 0.6 N, NaCl 25% and NaOH 0.2 N ( $p < 0.001$  vs. controls). The pretreatment with the SH blocker NEM (N-ethylmaleimide, s.c., 10 mg/kg) did not reduce the mucosal protection observed with JRLE treatment. These findings suggest that endogenous SH is not involved in the protective effect of JRLE. The inhibitory effect of JRLE on ethanol induced ulcerogenesis continued even after the inhibition of NO following pretreatment with NO synthase inhibitor (L-NNA, i.p., 40 mg/kg). The antiulcerogenic JRLE protection was only partially blocked by pretreatment with indomethacin (inhibitor of PG, i.p., 10 mg/kg), ( $p < 0.05$  vs. control). Present findings suggest that JRLE gastric protection depends, at least partially, on a possible mechanism related with the modulation of endogenous PG. Several flavonoids are reported for their gastroprotective activities. These compounds could be responsible for the gastroprotective activity. These results contribute to the scientific validation of the digestive, anti-ulcer and gastritis indications of this botanic species in Argentine folk medicine.

