



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**DETERMINACIÓN DE TNF- α , IL-1 β Y COX-2, MEDIANTE
INMUNOHISTOQUÍMICA EN ESTÓMAGOS DE RATA
PREVIAMENTE INDUCIDOS A ÚLCERA GÁSTRICA
(MODELO QUÍMICO) Y CON TRATAMIENTO DE EXTRACTOS
ACUOSOS DE *RUBUS FRUCTICOSUS*
Y *CITRUS LIMONUM RISSO***

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

P R E S E N T A:

NAYELI MARIEL CARMONA PRIETO



CIUDAD DE MÉXICO

2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: PROF. ATONATIU E. GÓMEZ MARTÍNEZ
VOCAL: PROF. MARTHA LETICIA JIMÉNEZ PARDO
SECRETARIO: PROF. RUTH BUSTAMANTE GARCÍA
1ER. SUPLENTE: PROF. ALEJANDRO ORTIZ OSORNIO
2Do. SUPLENTE: PROF. MARÍA EVA GONZÁLEZ TRUJANO

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

- **BIOTERIO 5° PISO, EDIFICIO A, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM**
- **CENTRO MÉDICO SIGLO XXI, UNIDAD DE INVESTIGACIÓN DE CARDIOLOGÍA**

ASESOR DEL TEMA:

DRA. RUTH BUSTAMANTE GARCÍA

SUPERVISOR TÉCNICO (Si lo hay):

M en C. TERESA NERI GOMEZ

SUSTENTANTE:

PQFB. CARMONA PRIETO NAYELI MARIEL

ÍNDICE DE CONTENIDO

PÁGINA

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Situación de las enfermedades gastrointestinales en México.	2
2.1.2. Estadísticas de enfermedades gástricas en México	2
2.1.3 Estómago	3
2.1.4. Fisiología	6
2.1.5 Alimentos alcalinizantes y acidificantes	9
2.2 GASTRITIS	10
2.2.1. Mediadores bacterianos de la inflamación	12
2.2.2 Catalasa	13
2.2.3 Proteasa	14
2.2.4 Ureasa	14
2.3 Lipasa y Fosfolipasa A2 y C	15
2.3.1 Superóxido dismutasa	15
2.3.2 Factor activador de plaquetas	16
2.3.3 Etapas de la Gastritis causada por <i>Helicobacter pylori</i>	16
2.4 Gastritis aguda	17
2.5 Gastritis Crónica	17
2.5.1 La secreción acido-gástrica debido a alimentos y bebidas alcohólicas	18

2.5.2 Mecanismos de protección de la mucosa gástrica	18
2.6 ÚLCERA	20
2.6.1 CLASIFICACIÓN DE LA ÚLCERA GÁSTRICA	20
2.6.2 Primaria	20
2.6.3 Secundaria	21
2.7 Fármacos utilizados para el tratamiento de la gastritis	22
2.8 Propiedades generales de las citosinas	23
2.8.1 Ciclooxigenasa	23
2.8.2 Principales tipos de respuesta por la acción de las citocinas	25
2.8.3 Receptores de citocinas	26
2.8.4 Factores de necrosis tumoral	29
2.9 <i>Rubus fruticosus</i> (Hoja de zarzamora)	33
2.9.1 Taxonomía	33
2.9.2 Propiedades vulnerarias y valor nutricional	34
2.9.3 Hidroquinona	35
2.9.4 Arbutina	35
2.9.5 Taninos	37
2.9.6 <i>Citrus limonum</i> Risso (Limón)	38
2.9.7 Taxonomía	39
2.9.8 Componentes activos	39

2.9.9 Propiedades terapéuticas	40
3. JUSTIFICACIÓN	40
4. OBJETIVO	41
5. HIPOTESIS	41
6. DESARROLLO EXPERIMENTAL	41
6.1. Material Vegetal	41
6.1.2 Reactivos	42
6.1.3 Reactivos biológicos	42
6.2 Obtención de los extractos acuosos de <i>Rubus fruticosus</i> y <i>Citrus limonum</i> Risso	42
7. RESULTADOS	46
7.1. Efecto regenerador (Modelo E/T)	46
7.1.2. Áreas de lesión (E/T)	46
7.1.3. Número de lesiones (E/T)	47
7.2. Efecto gastroprotector, (Modelo T/E)	48
7.2.1. Áreas de lesión (T/E)	48
7.2.2. Número de lesiones, en el modelo (T/E)	49
7.3. Descripción macroscópica y microscópica del efecto regenerativo (E/T) de los estómagos de rata	50

7.3.1 Descripción macroscópica y microscópica del efecto	
Gastroprotector (T/E) de los estómagos de rata	53
7.4 Resultados de densidad óptica en el modelo para determinar	
El efecto de cicatrización (E/T) de las proteínas IL-1 β TNF- α , y COX-2	56
7.4.1 Resultados con IL-1 β	56
7.4.2 Resultados con COX-2	57
7.4.3 Resultados con TNF- α	58
7.5. Resultados de densidad óptica en el modelo para determinar	
El efecto gastroprotector (T/E) de las proteínas IL-1 β TNF- α , y COX-2	59
7.5.1 Resultados con IL-1 β	59
7.5.2 Resultados con COX-2	60
7.5.3 Resultados con TNF- α	61
8. DISCUSIÓN	62
9. CONCLUSIONES	68
10. REFERENCIAS	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

Figura 1. Estadísticas de enfermedades gastrointestinales en México En los años 2000 al 2008	3
Figura 2. Configuración del estómago de manera externa e interna.	4
Figura 3. Proceso digestivo y órganos anexos involucrados.	7
Figura 4. Reacciones enzimáticas en el proceso digestivo	8
Figura 5. Respuesta de las células epiteliales	11
Figura 6. Secreción de HCl en el estómago	19
Figura 7. Acción de las citosinas sobre la célula	26
Figura 8. Vías de las citocinas	27
Figura 9. Receptores de Interleucina	27
Figura 10. Receptores de Clase I	29
Figura 11. Planta de zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i>)	33
Figura 12. Estructura química de la hidroquinona	35
Figura 13. Polifenoles y flavonoides	36
Figura 14. Clasificación de los taninos	38
Figura 15. Limón (<i>Citrus limonum</i> Risso)	39
Figura 16. Diagrama de método, para analizar efecto cicatrizante	43
Figura 17. Diagrama del procedimiento de inmunohistoquímica	45
Figura 18. Estómago de rata fijado con formaldehido	46
Figura 19. Grafica de área de lesión (mm ²) en estómagos de rata Vs. Tratamiento, modelo (E/T)	47
Figura 20. Grafica número de lesiones en función del tratamiento, modelo (E/T)	48
Figura 21. Área de lesión (mm ²) en estómagos de rata Vs. Tratamiento, modelo (T/E).	49
Figura 22. Número de lesiones en función del tratamiento (T/E)	50

Figura 23. Densidad óptica de IL-1 β en función del tratamiento, modelo (E/T).	56
Figura 24. Densidad óptica de COX-2 en función del tratamiento, modelo (E/T).	57
Figura 25. Densidad óptica de TNF- α en función del tratamiento, modelo (E/T).	58
Figura 26. Densidad óptica de IL-1 β en función del tratamiento, modelo (T/E).	59
Figura 27. Densidad óptica de COX-2 en función del tratamiento, modelo (T/E).	60
Figura 28. Densidad óptica de TNF- α en función del tratamiento, modelo (T/E).	61

ÍNDICE DE CUADROS	PÁGINA
Cuadro 1.- Células principales del aparato digestivo	06
Cuadro 2.- Principales enzimas y activadores del sistema digestivo	08
Cuadro 3. Ejemplo de alimentos alcalinos y ácidos	09
Cuadro 4. Clasificación de los mediadores bacterianos de la inflamación	13
Cuadro 5. Clasificación de Johnson de las úlceras gastroduodenal	21
Cuadro 6. Principales efectos de las citocinas	31
Cuadro 7. Descripción de las citocinas y su actividad tumoral	32
Cuadro 8. Evaluación macro y microscópica en estómagos de rata, en el modelo (E/T)	51 y 52
Cuadro 9. Evaluación macro y microscópica en estómagos de rata, en el modelo (T/E)	54 y 55

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

A	Alfa, letra del alfabeto griego
B	Beta, letra del alfabeto griego
γ	Gamma, letra del alfabeto griego
μm	Micrómetro
(T/E)	Tratamiento posteriormente EtOH
(E/T)	EtOH posteriormente tratamiento
5-HT	5-hidroxitriptamina (vasoconstrictor)
<i>ad libitum</i>	Expresión del latín, “a voluntad”
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ANOVA	Análisis de varianza
aprox.	Aproximadamente
AT	Azul de toluidina
ATP	Adenosín trifosfato
BPL	Buenas prácticas de laboratorio
$\text{C}_6\text{C}_3\text{C}_6$	Esqueleto común de difenilpiranos
$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	Ácido cítrico
Ca^{2+}	Ión calcio
Ctr. Neg	Control negativo
Ctr. Pos	Control positivo
EA	Ensayo agudo
EC	Ensayo crónico
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
<i>et al</i>	Expresión del latín, “y otros”

Ext. Ac.	Extracto acuoso
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
GAGs	Glucosaminoglicanos
HE	Hematoxilina-eosina
HTs	Taninos hidrolizables
IIP	Índice de irritación primaria
IP	Intraperitoneal
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LGS	Ley General de Salud
mg/ml	Miligramo por mililitro
mEque/L	Miliequivalente por litro
MGA	Método General de Análisis
MMPs	Metaloproteínas de matriz
MR	Marca Registrada
N	Número
N/A	No aplica
NOM	Norma Oficial Mexicana
O/W	Emulsiones agua en aceite (del inglés, oil-water emulsions)
PAI-1	Inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1
Pas	Proantocianidinas
Pba.	Prueba
PBS	Tampón fosfato salino (del inglés, phosphate buffered saline)
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
pH	Potencial de hidrógeno
P.O.	Sondeo esofágico
<i>post mortem</i>	Expresión del latín, “después de la muerte”

<i>R. fruticosus</i>	<i>Rubus fruticosus</i>
RH	Remedio herbolario
RIS	Reglamento de Insumos para la Salud
SSI	Solución salina isotónica 0.9%
TAS	Emulsiones bifásicas de agua en siliconas (del inglés, transparent aqua silicone emulsions)
TBE	Tribromoetanol
TCS	Tejido celular subcutáneo
Texp	Tiempo de exposición
TOW	Emulsiones bifásicas de agua en aceite (del inglés, transparent oil in water emulsions)
TXA ₂	Tromboxano (vasoconstrictor)
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
UVA	Rayos ultra violeta
W/S	Emulsiones de siliconas en agua (del inglés, water-silicone emulsiones)
X	Número de aumento
IL-1 β	Interleucina uno beta
IL-1 α	Interleucina uno alfa
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
COX-2	Ciclooxigenasa dos
AINES	Antinflamatorios no esteroideos
IBP	Inhibidor de la bomba de protone
IgE	Inmunoglobulina E (Anticuerpo)
AA	Ácido araquidónico

HCO ₃ ⁻	Anión Bicarbonato (Buffer)
UD	Úlcera Duodenal
Ag	Antígeno
p.e.	Por ejemplo
H ₂	Histamínicos clase 2

1. INTRODUCCIÓN

Desde hace más de un siglo las enfermedades del tracto gastrointestinal como gastritis, úlcera, síndrome de colon irritable y cáncer de estómago, por mencionar algunos, constituyen una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en México, en donde se creía que factores como: estrés, ansiedad, consumo de alcohol, tabaco, uso de AINES y tipo de alimentación eran los que propiciaban la estimulación del sistema nervioso y que generaba la producción masiva de jugos gástricos, provocando daño en el tejido celular. Para el tratamiento de estas afecciones se han utilizado fármacos como las sales de magnesio y aluminio, bloqueadores de histamina, inhibidores de la bomba de hidrógeno principalmente, sin embargo a veces solo disminuyen el malestar y el uso prolongado de estos puede tener efectos adversos como daños renales y hepáticos. Actualmente una de las alternativas es el uso de fitofármacos, que puedan tener efectos terapéuticos, como es el caso de *Rubus Fruticosus* y *Citrus Limonum Risso*, los cuales han sido utilizados como antihemorrágicos, anti ulcerosos cutáneos y/o bucales, efectos cicatrizantes y gastroprotectores. Por lo que en este trabajo se evaluaron algunos marcadores inflamatorios (TNF- α , COX-2 y IL-1 β) ante la inducción de úlceras gástrica, mediante un modelo químico en ratas y con posterior tratamiento del extracto acuoso de las hojas de zarzamora (*Rubus fruticosus*) o de limón (*Citrus limonum Risso*). De acuerdo a los resultados obtenidos, el grupo de control positivo (administración con etanol) presento mayor inmunoreactividad para IL-1B, COX-2 y TNF- α con respecto a los grupos administrados con los extractos de *Rubus Fruticosus* y *Citrus Limonum Risso*, respectivamente, por lo que se concluye que hubo disminución de la actividad de IL-1B, COX-2 y TNF- α en ambos extractos, lo cual se correlaciona con la disminución de las lesiones previamente inducidas con etanol.

2. ANTECEDENTES

a. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México

Las enfermedades gastrointestinales, son una de las primeras causas de consulta médica y también una de las primeras causas de muerte en México y el mundo. Por ello, son consideradas como un problema de salud pública a nivel mundial, que afecta a personas de cualquier edad y condición social, aunque los grupos más vulnerables son los niños y los ancianos (Naso, 2010).

2.1.2. Estadísticas de enfermedades gástricas en México

Dentro de las enfermedades gastrointestinales además de las infecciones causadas por diversos microorganismos (p.e. *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Shigella sp.*, *S. aureus*, etc.), también se encuentran las lesiones en la mucosa gástrica como es la gastritis y úlceras por mencionar algunas (Naso, 2010). En México el índice de casos reportada entre el año 2000 al 2008 para la población en edad productiva (25 a 44 años) para enfermedades gástricas aumentó significativamente como se puede apreciar en la Figura 1. Por lo que es importante el estudio, prevención y desarrollo de nuevas terapias para prevenir y curar este tipo de lesiones ya que pueden ser incapacitantes y el costo de tratamiento es caro debido a la periodicidad por reincidencia de la enfermedad.

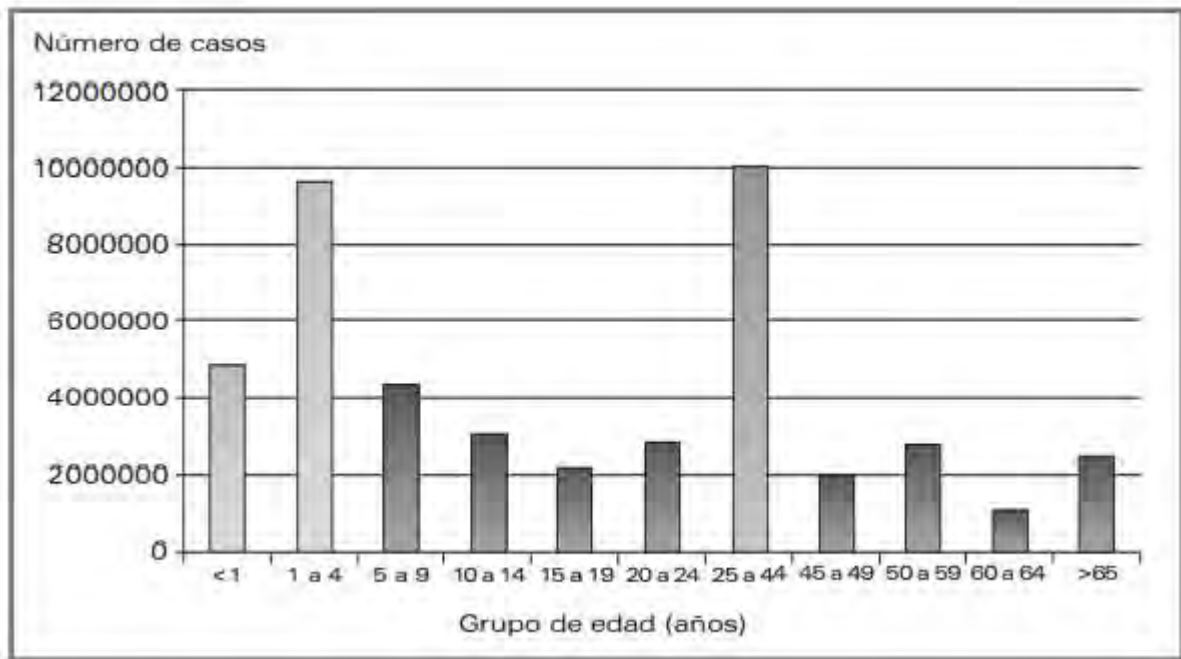


Figura 1. Estadísticas de enfermedades gastrointestinales en México en los años 2000 al 2008 (Naso, 2010).

2.1.3 Estómago

El estómago es un saco elástico y hueco que presenta una forma de “J” el cual posee una superficie externa lisa y una superficie interna que cuenta con pliegues que favorece la mezcla de los alimentos con los diferentes jugos digestivos, destacando precisamente por ser la parte más ancha del tubo digestivo (Figura 2), en donde la configuración externa e interna del estómago se puede clasificar de acuerdo a su porción vertical en: fundus gástrico, cuerpo gástrico, extremidad inferior, porción pilórica, curvatura mayor, curvatura menor, cardias y píloro.

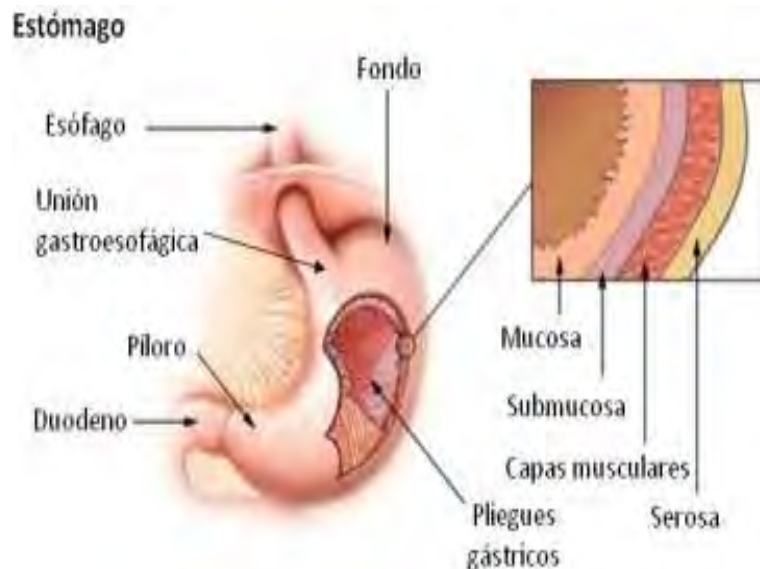


Figura 2. Configuración del estómago de manera externa e interna (López, 2014)

Este órgano está situado en la parte alta del abdomen, manteniendo relación con el hígado, el páncreas, el colon y las vías biliares (Navarro, 2009). Una de las características del interior del estómago es que se encuentra cubierto por una mucosa con pliegues o glándulas que se encargan de la producción de enzimas capaces de continuar el proceso de la digestión, así mismo, presenta una capa muscular que recubre la submucosa, la cual está constituida por fibras que permiten la mezcla de los alimentos y le aportan resistencia. Además de contar con la pared gástrica, la cual consta de cuatro capas que permiten su motilidad y secreción del ácido clorhídrico (HCl) (Domínguez, 2005).

Estas capas son:

- a) Serosa. Capa superficial formada por el peritoneo.
- b) Muscular. Capa gruesa, con tres planos de fibras musculares lisas: superficial longitudinal, circular o media y oblicua o profunda (Navarro, 2009; Latarjet y Ruiz 2008).
- c) Submucosa. Formada por conectivo laxo con numerosos linfocitos y células plasmáticas. Contiene numerosos vasos sanguíneos y linfáticos (Universidad de ciencias veterinarias FCV UBA, 2009).

d) Mucosa. capa gruesa, blanda y aterciopelada, de color rojizo en la región corpofúndica y rosada en la antral (Navarro, 2009).

A su vez la mucosa gástrica se divide en regiones secretoras y no secretoras de ácido y está formada por un epitelio simple de células cilíndricas altas que forma pliegues muy compactos. En las zonas más profundas de esos desembocan las glándulas gástricas las cuales son tubulares simples o ramificadas y el epitelio de las foveolas está formado por células de revestimiento secretoras de moco que lubrican la superficie de la mucosa, y la protegen de posibles lesiones (Universidad de ciencias veterinarias FCV UBA, 2009; López, 2014).

Microscópicamente, la mucosa gástrica está compuesta por 3 capas:

a) Epitelio, dispuesto en una capa de revestimiento superficial con células secretoras de moco (Navarro, 2009).

b) Lamina propia: Tejido conectivo laxo que actúa como soporte del epitelio, contiene tejido linfoide, y pequeños vasos y nervios (Navarro, 2009).

c) Muscular de la mucosa: Estrato delgado de músculo liso, que rodea la base glandular (Navarro, 2009).

Por otro lado podemos mencionar que el aparato digestivo consta de células especializadas que van a secretar diferentes sustancias, las cuales están en función del sitio predominante de localización como se muestra en el Cuadro 1 (Muñoz, 2014).

Cuadro 1. Células principales del aparato digestivo (Muñoz, 2014).

Células	Secreción	Localización predominante
Principales	Pepsina y Renina	Cuerpo y fundus
Parietales	Ácido clorhídrico	Cuerpo y fundus
Oxitinas	Factor Intrínseco	Cardias
Mucosas	Moco	Cardias
Enteroendocrinas	Gastrina	Antro – piloro
G y D	Somatostatina	Cuerpo y fundus

2.1.4. Fisiología

El estómago presenta varias funciones entre las cuales están: actuar como depósito o almacenamiento temporal de las grandes cantidades de alimentos ingeridas, digestión química de las proteínas, mezclar el bolo alimenticio (formado con la masticación), la secreción gástrica hasta que se obtiene el quimo, vaciamiento progresivo del quimo a una velocidad compatible tanto con la digestión como la absorción por parte del intestino delgado (Figura 3), fragmentación mecánica del alimento en partículas pequeñas, secreción del factor intrínseco, esencial para la absorción en el íleon de la vitamina B12, así como mantener el control sistemático de las funciones del organismo y mantener una mucosa protectora contra agresiones endógenas y exógenas (Muñoz, 2014).

Aparato digestivo, partes y procesos

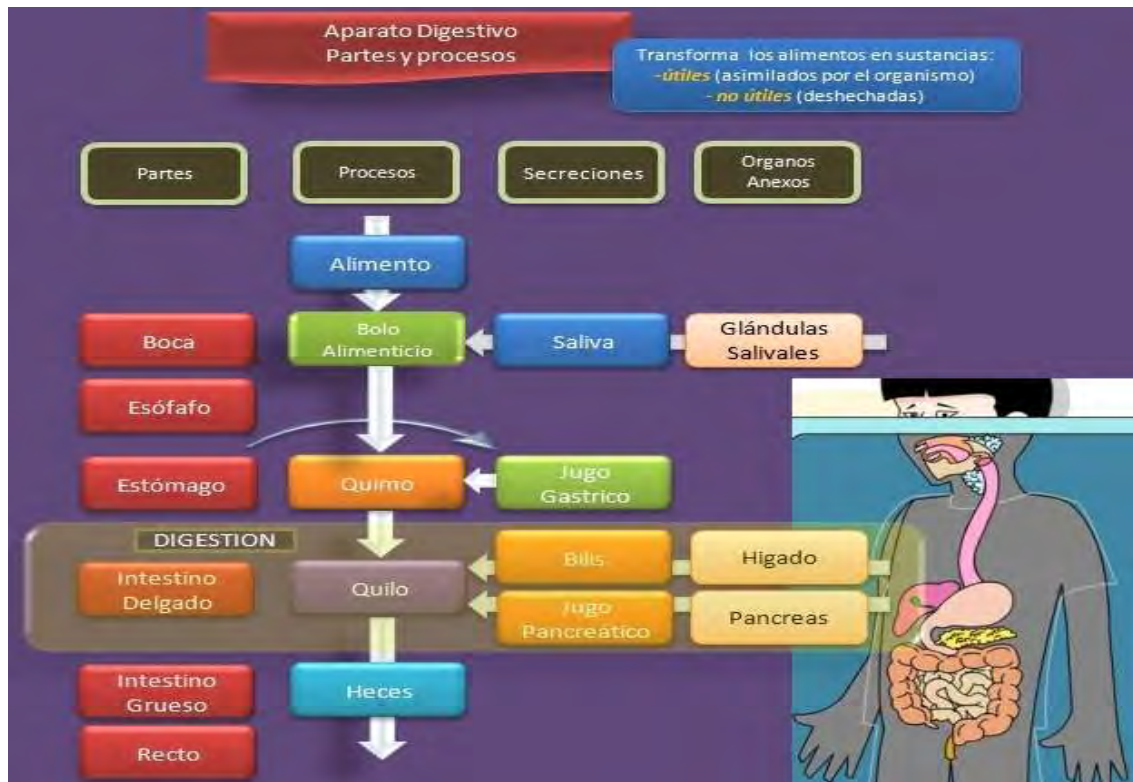
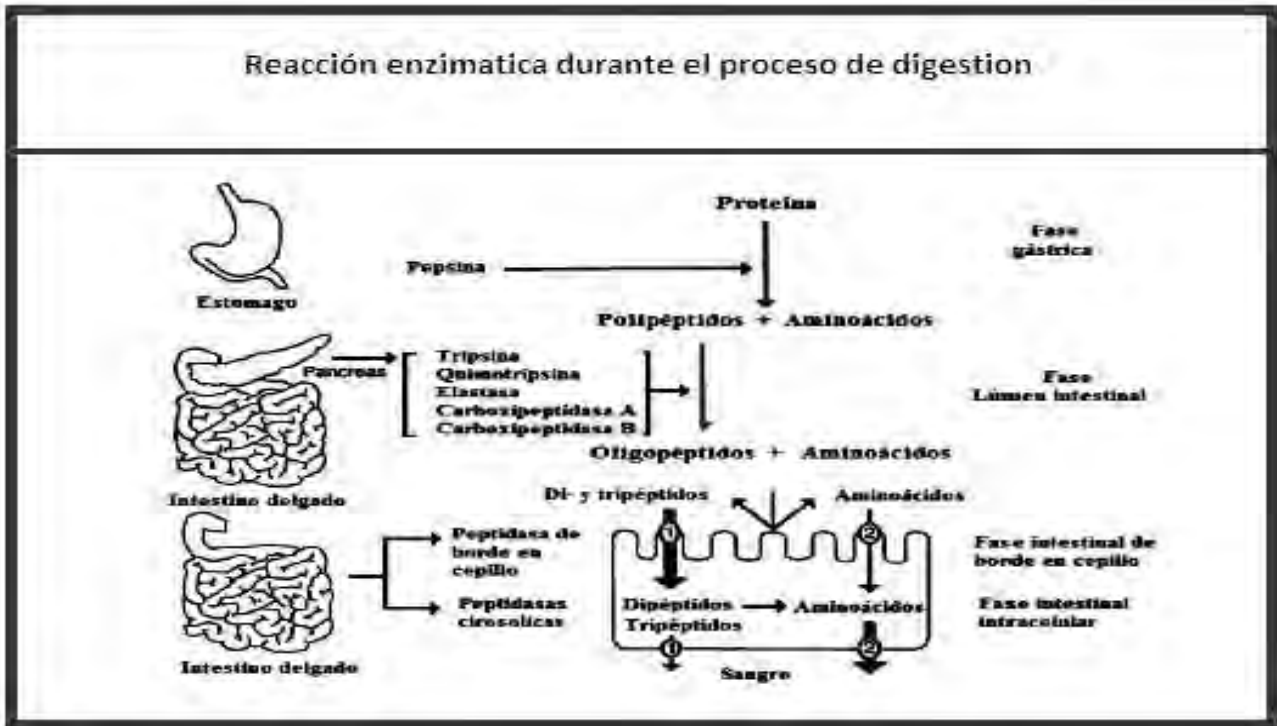


Figura 3. Proceso digestivo y órganos anexos involucrados (López, 2014).

En relación a las reacciones enzimáticas que se llevan en el proceso de digestión (Figura 3), en cada una de las fases involucradas: gástrica, lumen intestinal, intestinal de borde en cepillo e intersticial intracelular, existen una serie de enzimas, en donde depende del factor activador y tipo de sustrato, las cuales pueden realizar las acciones emolientes, digestivas o de degradación por mencionar algunas como se muestra en el Cuadro (2) nos muestra el listado de las principales enzimas digestivas (Muñoz, 2014).

Figura 4. Reacciones enzimáticas en el proceso digestivo (López, 2014).



Cuadro 2. Enzimas y activadores del sistema digestivo (Muñoz, 2014).

Principales Enzimas Digestivas				
Origen	Enzima	Activador	Sustrato	Resultado
Gl. Salival	α -amilasa	Cl^-	Almidón	Dextrina y maltosa
Estómago	Pepsinógeno	HCl	Proteínas	Polipeptidos
	Renina	HCl	Caseinógeno	Caseinato de calcio
Páncreas	Tripsinógeno	Enterocinasa	Proteínas	Polipeptidos
	Quimotripsinógeno	Enterocinasa	Proteínas	Polipeptidos
	Carboxipeptidasa	Tripsina	Proteínas	Polipeptidos
	Lipasa		Triglicéridos	Monoglicéridos
	Amilasa	Cl^-	Almidón	Dextrina y maltosa
	Ribonucleasa		ARN	Nucleótidos
	Desoxirribonucleasa		ADN	Nucleótidos
Intestino delgado	Enterocinasa		Tripsinógeno	Tripsina
	Aminopeptidasa*		Polipeptidos	Péptidos
	Polipeptidasa*		Polipeptidos	Péptidos
	Dipeptidasa*		Dipeptidos	Péptidos
	Maltasa**		Maltosa	Glucosa + glucosa
	Sacarasa**		Sacarosa	Glucosa + fructosa
	Lactasa**		Lactosa	Glucosa + galactosa
Higado	Bilis***		Grasas	Grasas emulsionadas

Por otro lado es importante mencionar que para mantener el adecuado funcionamiento del aparato digestivo, la acidez en el estómago debe oscilar en un pH ácido (1.5 – 3.5) en un volumen estomacal de 20 a 100 ml, ya que si no se mantiene en estas condiciones, existe la posibilidad y riesgo de contraer infecciones estomacales, enfermedades como la gastritis y la formación de úlceras gástricas, por lo que es relevante considerar el tipo de alimentos y / o medicamentos que se van a ingerir ya que dependiendo de su naturaleza química y grado de acidez o alcalinidad, pudiera modificar el pH estomacal (López, 2014).

2.1.5 Alimentos alcalinizantes y acidificantes

En general, los alimentos alcalinos son las frutas, las verduras, hortalizas, especias, hierbas y condimentos, semillas y frutos secos. Si bien las frutas tienen un pH bajo, lo que las hace más ácidas, se debe tener presente que no es lo mismo la reacción química de un alimento fuera que dentro del organismo. Cuando un alimento se metaboliza, puede generar una reacción totalmente distinta a su característica original. Tenemos como ejemplo de limón o la miel, ambos con pH ácido, pero una vez dentro del organismo provocan una reacción alcalina (Yamada, 2008).

En general los alimentos ácidos son las carnes rojas, aves, huevos, cereales y legumbres. En el Cuadro (3) se muestran algunos ejemplos de alimentos clasificados como alcalinos y ácidos, en el cual tanto para *Rubus fruticosus* (Zarzamora) y *Citrus limonum* (limón), son considerados alimentos alcalinos (Young, 2014).

Cuadro (3). Ejemplo de alimentos alcalinos y ácidos (Young, 2014)

ALIMENTOS ALCALINOS	ALIMENTOS ÁCIDOS
UVA FRESCA	Panceta de cerdo
ALMENDRAS	Pollo hervido
DÁTILES	Carne de vacuno
MANZANA	Clara de huevo
ZANAHORIA	Nueces
APIO	Salmón fresco
MELÓN	Caballa fresca
LIMÓN	Pan de harina refinada
ZARZAMORA	Queso de vaca
REPOLLO	Arroz blanco hervido

Caso contrario son las células animales: la combinación de nuestras propias células con las ingeridas de origen animal dejan un residuo tóxico y ácido. También los minerales juegan un papel muy importante, ya que los alimentos con un alto contenido en azufre, fósforo y cloro y alcalinos los que contienen calcio, magnesio, sodio y potasio son clasificados como ácidos (Young, 2014).

2.2 GASTRITIS

Se conoce que la inflamación crónica del estómago, es un tema muy controvertido en la práctica médica, desde los puntos de vista clínico, endoscópico, radiológico e histológico, por lo que se investiga arduamente para revelar los diferentes mecanismos fisiopatológicos que producen el daño hístico del estómago.

Desde una perspectiva endoscópica hay tres tipos de gastritis:

- a) Tipo 1: Se caracteriza por edema generalizado de la mucosa, el antro es estrecho y la mucosa tiene una apariencia aterciopelada sin erosiones.
- b) Tipo 2: Hemorrágica, se caracteriza por pliegues engrosados, disminución de la distensibilidad, puntos de hemorragia y erosiones.
- c) Tipo 3: Ulceroso, caracterizado por erosiones extensas o úlceras acompañadas de hemorragia.

Además con el descubrimiento y caracterización del *Helicobacter pylori* y su estrecha relación con la gastritis crónica tipo B y las úlceras gastroduodenales, la historia natural de estas afecciones y su abordaje terapéutico han cambiado radicalmente. El *H. pylori* es una bacteria que ha revolucionado la Gastroenterología en los últimos 25 años. A mediados de los 80, la úlcera duodenal (UD) era considerada una enfermedad asociada a una hiperacidez, y la úlcera gástrica a una alteración de la barrera mucosa. Al descubrirse su relación con HP, la enfermedad ulcero-péptica pasó a ser una enfermedad infecciosa con un muy alto índice de curación y una baja tasa de recurrencia, ya que presenta alta prevalencia mundial y asociación con múltiples patologías, la gran mayoría de los pacientes

portadores de HP son asintomáticas (Vanaclocha, 2006). Por lo que la importancia que se le imprime en la actualidad a la infección por *H. pylori* y la afirmación indiscutible de que es el agente etiológico más común de la inflamación gástrica, describiremos los diferentes procesos que ocurren tras su llegada al estómago. La patogénesis de la gastritis crónica por HP incluye 2 etapas: la primera está caracterizada por la llegada y penetración del microorganismo al *mucus* gástrico donde se asienta y se multiplica. En esta etapa la bacteria libera varias sustancias tóxicas que son capaces de estimular la respuesta inmunológica local, expresada en un aumento de IgA secretora, con el fin de evitar el proceso de la infección.

Las principales células inflamatorias participantes en este proceso inicial son los neutrófilos, que son atraídos al sitio de la lesión; de ahí que su presencia en compañía de folículos linfoides se considere como "signo de actividad". Durante esta fase es frecuente observar la invasión de HP en las células epiteliales, (Figura 5).

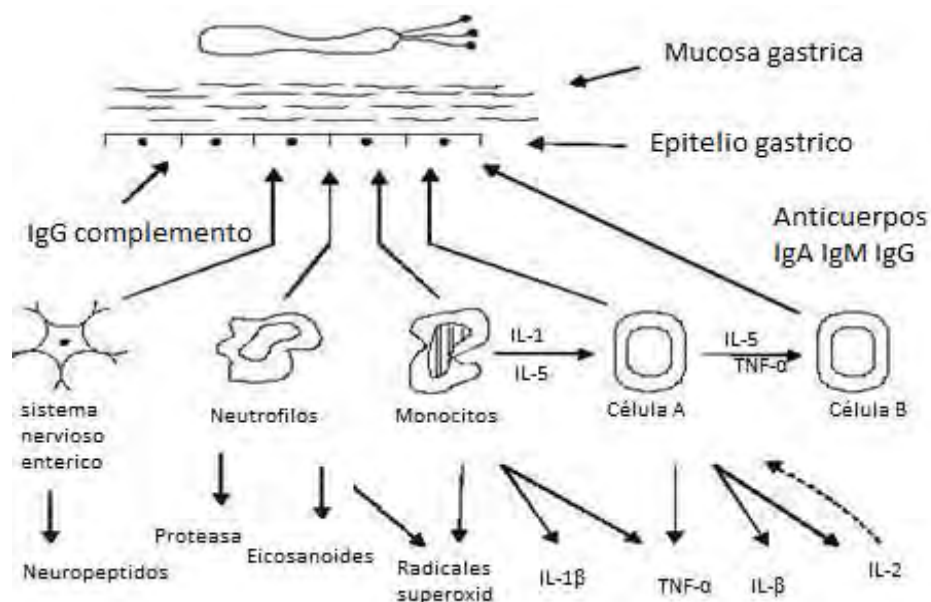


Figura 5. Respuesta de las células epiteliales (Muñoz, 2014).

En la segunda etapa se presenta una amplificación de la respuesta inflamatoria, por la interacción de linfocitos, neutrófilos, macrófagos, células mastoides y células no inmunes que, al ser atraídos al sitio de la lesión, liberan gran variedad de mediadores químicos como:

citocinas, metabolitos reactivos de oxígeno (radicales libres de oxígeno) y el sistema de complemento, que perpetúan la inflamación.

En esta última etapa, también participan los neuropéptidos liberados por las neuronas del sistema nervioso entérico, que contribuyen a ampliar la respuesta inflamatoria y aumentan los daños funcionales del estómago colonizado por *H. pylori*. La segunda etapa es importante en la patogénesis de la inflamación gástrica; resalta la participación del sistema inmune local y sistémico en el control de la infección y la neutralización de las toxinas bacterianas. Además, se potencializa la destrucción hística que, según su intensidad y duración, puede crear una úlcera gastroduodenal (Juarez, 2015).

Independientemente de los procesos explicados en la patogénesis de la gastritis por *Helicobacter pylori*, es evidente que la capacidad del germen para inducir respuesta inmune y activación celular varía en las diferentes cepas reconocidas: las tipo I (CagA) poseen mayor capacidad para inducir el proceso inflamatorio en la mucosa gástrica que las tipo II (Vac A), que son menos citotóxicas.

2.2.1 Mediadores bacterianos de la inflamación

La asociación de la infección por *H. pylori* y las afecciones gastroduodenales crónicas es un estímulo constante para miles de investigadores que tratan de esclarecer cómo una bacteria Gram-negativa, poco invasora y que habita en la mucosa gástrica es capaz de desarrollar gastritis crónica activa, úlcera gastroduodenal, gastritis atrófica, cáncer gástrico y linfoma gástrico tipo MALT (James, 2011).

Como se ha afirmado anteriormente, en el proceso inflamatorio de la mucosa gástrica por *Helicobacter pylori* participa un grupo de sustancias tóxicas liberadas por la bacteria que desencadenan e inician el daño histológico. Asimismo, esta capacidad de producir toxinas citotóxicas es variable en las distintas cepas de *H. pylori* reconocidas, lo que explica

la existencia de una gran heterogeneidad genética para desencadenar el daño hístico (James, 2011).

Dentro del grupo de mediadores bacterianos de la inflamación se destacan el pro-inflamatorio y las sustancias antigénicas, como se muestra en el Cuadro (4).

Cuadro 4. Clasificación de los mediadores bacterianos de la inflamación (Muñoz, 2014).

Clasificación	Mediadores Bacterianos
PROINFLAMATORIOS	Ureasa
	Catalasa
	Proteasa
	Lipasa
	Fosfolipasa A2 y C
	Factor activador de plaquetas
ANTIGÉNICOS	Lipopolisacaridos
	Citotoxinas
	Toxinas

2.2.2 Catalasa

Es una de las enzimas producidas por la bacteria que desempeña una función importante como factor de virulencia, favorece la sobrevivencia de la bacteria en el tejido inflamado, la protege de las acciones fagocíticas de los neutrófilos, de los metabolitos reactivos de oxígeno (MRO) y la de otros mediadores químicos de la inflamación (Domínguez, 2005).

2.2.3 Proteasa

Enzima que desintegra la estructura polimérica del *mucus* y debilita su función como barrera por la pérdida gradual de su viscosidad, lo cual aumenta la retro-difusión del ion hidrógeno (López, 2014).

2.2.4 Ureasa

Una de las características más importantes de las cepas de *H. pylori* además de la oxidasa y catalasa positivas, es la presencia de una potente enzima denominada ureasa, la cual protege a la bacteria de los efectos letales del ácido gástrico mediante la formación de una -nube de amonio- que le sirve para amortiguar su entorno vital y poder colonizar el epitelio. La ureasa se localiza en el espacio peri-plasmático y en la membrana más externa de la bacteria, su actividad se beneficia cuando el pH es bajo. La producción de ureasa interviene en la regulación del metabolismo de la urea, forma dióxido de carbono y amoníaco. En diversos trabajos se señala la función tóxica del amoníaco sobre las células eucariotas de la mucosa gástrica, aunque algunos autores opinan que el amoníaco en sí no daña la célula sino que el daño es provocado por uno de sus metabolitos (denominado mono cloramina) formado por la interacción del amoníaco con el ácido hipocloroso producido por los neutrófilos activados. El amoníaco producido por la ureasa difunde más fácilmente que el ion amonio, derivado de la unión del amoníaco y el ácido clorhídrico del jugo gástrico, por lo cual el amonio no se considera dañino para la mucosa gástrica. En estudios experimentales, tanto en animales como en el hombre, infectados por *H. pylori*, la concentración de amoníaco en el jugo gástrico se encuentra elevada en comparación con los no infectados. El amoníaco causa daño en la mucosa al actuar como agente necrosante, altera el funcionamiento mitocondrial, la respiración celular y el metabolismo energético, con lo cual disminuye la vitalidad de las células y se produce su muerte (Muñoz, 2014).

El amoníaco es capaz de modificar la secreción gástrica al estimular la secreción de gastrina e incrementar la producción de ácido clorhídrico que alteran la barrera mucosa gástrica y con lo cual se favorece la retro-difusión de hidrogeniones y se provoca más daño hístico. Otros mecanismos que se involucran en el daño producido por el amoníaco sobre el epitelio gástrico son: inhibición de la liberación del factor estimulador de crecimiento epidérmico, potente efecto inhibidor del ciclo de Krebs, caída significativa de la mucina intercelular y alteraciones de la microcirculación gástrica (estasis), así como disrupción y necrosis de la capa superficial del epitelio (Muñoz, 2014).

El amoníaco y otras sustancias liberadas por las bacterias son capaces de reducir la actividad bactericida de las células polimorfonucleares y de los monocitos, al inhibir la acidificación de los lisosomas durante la fagocitosis.

2.3 Lipasa y Fosfolipasa A₂ y C

Son factores de virulencia importantes. Estas sustancias, son liberadas por la bacteria en el sitio de la lesión, son capaces de degradar los fosfolípidos del *mucus* y disminuir su hidrofobicidad, como consecuencia de su fuerte actividad polipeptídica, de ahí su importancia en la ulcerogénesis. La lipasa y las fosfolipasa A₂ y C, al generar lisofosfolípidos provistos de actividad lítica, pueden atacar la integridad de la membrana epitelial y favorecer la liberación de ácido araquidónico (AA), con la consiguiente producción de leucotrienos y otros eicosanoides (activadores plaquetarios) que contribuyen a la inflamación. Estos compuestos, además de su acción inflamatoria, también alteran la permeabilidad de la membrana celular y la regeneración del *mucus* (Juárez, 2015).

2.3.1 Superóxido dismutasa

Esta enzima se encuentra en altas concentraciones dentro del citoplasma de *H. pylori*, y es utilizada por dicho microorganismo como mecanismo de defensa contra el ataque fagocítico de los neutrófilos. Actúa como antioxidante al catalizar los metabolitos reactivos de oxígeno

producidos por los neutrófilos, que pudieran dañarla. Estos hallazgos sugieren que *H. pylori* posee sus propios mecanismos de defensa que contribuyen a su acción patogénica sobre la mucosa gástrica (Juárez, 2015).

2.3.2 Factor activador de plaquetas

La bacteria es capaz de sintetizar y liberar cantidades importantes del factor activador de plaquetas, con potente acción quimiotáctica sobre los neutrófilos y los eosinófilos, así como otras acciones inmunomoduladoras, incluyendo la proliferación de los linfocitos. Este factor es conocido también como un agente pro-ulcerogénico en la mucosa gástrica por su acción sobre la adherencia y activación de los neutrófilos (Juárez, 2015).

2.3.3 Etapas de la Gastritis causada por *Helicobacter pylori*

Entre los mediadores antigénicos del *Helicobacter pylori* se encuentran: los lipopolisacáridos, las citotoxinas y las toxinas vacuolizantes que por mecanismos diferentes son capaces de dañar el funcionamiento y el metabolismo energético celular.

En las primeras y segundas etapas del proceso inflamatorio de la mucosa gástrica a la llegada del *Helicobacter pylori*, hay una amplificación de la respuesta inflamatoria por los mediadores químicos liberados por las células del sistema inmune, sistema nervioso entérico y el sistema de complemento. Esta inflamación de la mucosa gástrica, que en la gastroscopia se ve enrojecida, se presenta en forma de manchas rojizas, las cuales representan irritación o hemorragias subepiteliales. La gastritis que se origina de la infección por *H. pylori*, puede evolucionar sin sintomatología, o bien manifestar la expresión clínica propia de la gastritis aguda: dolor en epigastrio, náuseas, vómitos, anorexia, malestar general y en algunos casos fiebre, sintomatología que se prolonga por una semana, para desaparecer habitualmente sin tratamiento, es decir en la primera infección y el cuadro es auto limitado. La infección permanecerá indefinidamente con o sin sintomatología, evolucionando a la forma crónica, ocasionando: gastritis crónica superficial difusa, que puede evolucionar a gastritis atrófica en parches o multifocal, a una verdadera

atrofia gástrica y a metaplasia gástrica es posible que estén presentes procesos involucrados con respuestas pro-inflamatorias como el TNF- α , COX-2 e IL-1 β .

Por su clasificación más reciente, la gastritis tiene una división histológica y una endoscópica, ambas basadas en características topográficas, morfológicas y etiológicas.

Desde el punto de vista nosológico, las divide en gastritis aguda, crónica y grupos especiales (Douglas, 1987).

2.4 Gastritis aguda

Las erosiones son lesiones superficiales de la mucosa, no penetran en la capa muscular de la mucosa y miden menos de 5mm de diámetro. La causa de la gastritis erosiva y hemorrágica aguda es una lesión epitelial que puede ser producida por: hipoxia, lesión directa de fármacos y otros agentes lesivos (antiinflamatorios no esteroideos y /o etanol),

Los antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos no esteroideos (AINE's) son medicamentos que reducen los síntomas de la inflamación, el dolor y la fiebre respectivamente. Todos ejercen sus efectos por acción de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa. Los antiinflamatorios naturales, segregados por el propio organismo, son los derivados de los corticoides, sustancias de origen esteroideo de potente acción antiinflamatoria. Los AINE'S disponibles en el mercado inhiben la actividad tanto de la ciclooxigenasa-1 (COX-1) como a la ciclooxigenasa-2 (COX-2) y, por lo tanto, la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos. Se piensa que es la inhibición de la COX-2 la que en parte conlleva a la acción antiinflamatoria, analgésica y antipirética de los AINE, sin embargo, aquellos que simultáneamente inhiben a la COX-1 tienen la capacidad de causar hemorragias digestivas y úlceras, en especial la aspirina. Por lo tanto, se enfatizan las siguientes ventajas de inhibidores selectivos para la COX-2 (Yamada, 2008).

2.5 Gastritis Crónica

La gastritis crónica se define como una inflamación crónica del estómago caracterizada por un infiltrado difuso con linfocitos y plasmocitos que se extiende a la lámina propia y el

epitelio sin células atípicas. La atrofia se define como la desaparición de las glándulas normales en algún área del estómago. De esta manera la gastritis crónica puede ser *no atrófica y atrófica* (Waldman, 2010).

Por otro lado es importante mencionar la existencia de numerosas hipótesis que tratan de explicar el comienzo y el final del daño hístico provocado en la mucosa gástrica por diferentes agentes, así como sus respectivas complicaciones locales y sistemáticas, los factores involucrados entre los cuales se destacan los: genéticos, ambientales infecciosos, dietéticos, consumo de tabaco y drogas, vasculares, psicológicos, inmunológicos, nerviosos, por mencionar algunos.

2.5.1 La secreción acido-gástrica debido a alimentos y bebidas alcohólicas

Además de los alimentos, las bebidas alcohólicas como la cerveza y el vino tinto tienen una gran potencia como secretagogos tanto en humanos como en animales. Tras la administración de estos secretagogos, entre 30 y 45 min, después de estimular de manera importante la secreción ácida gástrica en modelos animales. Durante la secreción activa se observa concentraciones elevadas de gastrina sérica, lo que indica el efecto estimulador de la bebida alcohólica en la secreción ácida debido no solo al alcohol si no a otras sustancias como son las xantinas, principalmente la cafeína (Marín, 2008; Muñoz, 2014).

Sin embargo, existen diversos mecanismos que pueden proveer protección a la mucosa gástrica, como se menciona a continuación.

2.5.2 Mecanismos de protección de la mucosa gástrica

Los factores protectores más importantes se alojan en las células de la mucosa gástrica que secretan moco, en sus dos fases tanto en solución como en gel. El moco constituye una barrera más eficaz de protección gástrica contra la acción del ácido. Igualmente importante es la producción del HCO_3^- en la célula de la mucosa y su paso a la luz gástrica, donde entra en contacto con los hidrogeniones producidos por la célula parietal, formando

agua, hidróxido de carbono impidiendo que el Hidrogeno, al unirse con el cloro (Cl^-), formen mayor cantidad de ácido clorhídrico (HCl). El flujo sanguíneo constituye un importante mecanismo protector del estímulo ácido, ya que transporta la sangre rica en oxígeno y las sustancias, como las prostaglandinas, que impiden la perpetuación de la secreción acida. Igualmente, impiden la hipoxia local que podría favorecer el mal funcionamiento de mecanismos defensores locales como, por ejemplo, la renovación celular (Naso, 2010).

Por otro lado, la formación de ácido incluye los siguientes pasos:

- La entrada al canalículo principalmente de cloruro de potasio (KCl) y cloruro de sodio (NaCl).
- El agua se disocia en iones hidróxido, los cuales son secretados hacia el canalículo en intercambio por iones potasio mediante la H-K-ATPasa . El HCl es entonces secretado por el extremo abierto del canalículo hacia el lumen glandular.
- El agua pasa hacia el canalículo mediante ósmosis debido a los iones ya secretados hacia el canalículo. Así la secreción final contiene agua, HCl (150-160mEque/L), KCl (15mEque/L) y una pequeña concentración de NaCl .
- Por último, el dióxido de carbono (CO_2), se combina bajo la influencia de la anhidrasa carbónica con los iones hidroxilo para formar HCO_3^- , los cuales difundirán hacia el líquido extracelular en intercambio por iones Cl^- (Figura 6).

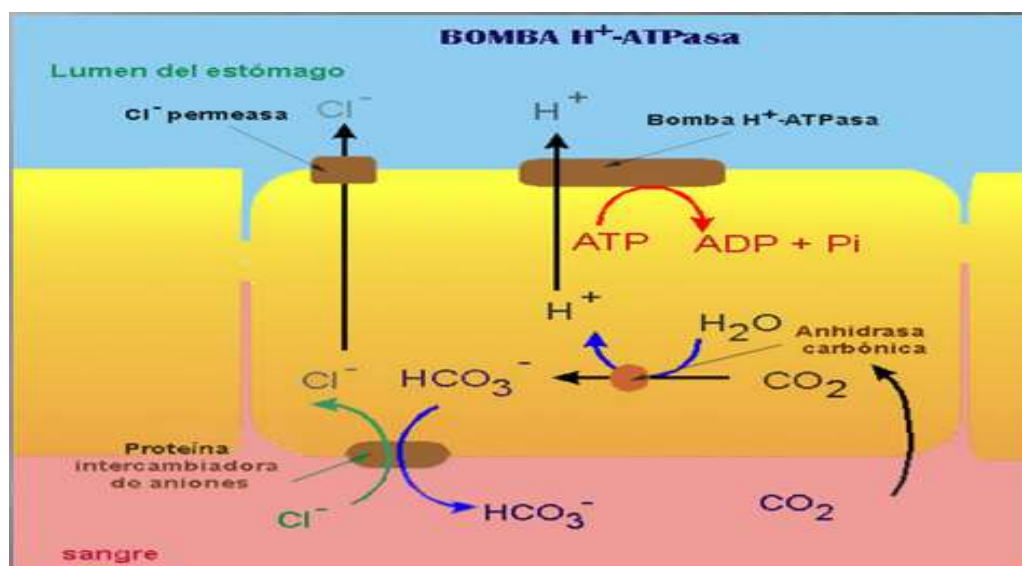


Figura 6. Secreción de HCl en el estómago (López, 2014).

Por lo que alterar la regulación de la secreción del HCl en el estómago ya sea por consecuencia de una bacteria, del incremento de producción del HCl se tendrán varias consecuencias como son las enfermedades gastrointestinales principalmente gastritis y úlceras (López, 2014).

2.6 ÚLCERA

La úlcera es una pérdida de sustancia en la mucosa, que se extiende por lo menos hasta la *muscularis mucosae* y que se localiza siempre en regiones del tracto digestivo expuesta a la acción del HCl y precisa como sustrato la presencia de mucosa gástrica o de áreas de metaplasia gástrica. Cuando la pérdida de sustancia no alcanza la submucosa, se habla de erosiones, en lugar de úlceras (Muñoz, 2014).

El desarrollo de la úlcera se produce como consecuencia de la pérdida de la situación de equilibrio, que en condiciones normales se logra a través de los mecanismos fisiológicos que gobiernan la función de la mucosa gástrica y su constante reparación ante los agentes agresivos; los mecanismos defensivos o protectores de la mucosa gástrica reflejan la capacidad del huésped para protegerse de los efectos nocivos de los factores agresivos. Las prostaglandinas defienden la mucosa inhibiendo directamente la secreción ácida a nivel de las células parietales, aumentando la producción del HCO_3^- y moco mejorando el fluido sanguíneo de la mucosa. Las principales localizaciones son el estómago y el duodeno; en este último caso, las lesiones suelen situarse en la primera porción duodenal (Muñoz, 2014).

2.6.1 CLASIFICACIÓN DE LA ÚLCERA GÁSTRICA

2.6.2 Primaria

La localización más frecuente de este tipo de úlceras es en el duodeno, entre ellas se incluye las producidas por *H.pylori*. Existen úlceras *H.pylori* negativas cuya causa es desconocida, por lo que también se denomina idiopáticas. El carácter diferencial respecto a las anteriores es que no presentan modularidad, la gastritis está prácticamente ausente y

con cierta frecuencia su forma de presentación clínica es una hemorragia digestiva (Cilleruelo, 2002; Fernández, 2002).

2.6.3 Secundaria

Aparece en presencia de factores ulcero génicos identificables, diferentes a la existencia de *H. pylori*. Suelen ser de carácter agudo y su localización es más frecuente en estómago que en duodeno. Otro de los factores es el consumo de ácido acetil salicílico y los fármacos AINES que causan lesión directa en la mucosa gástrica, ya sea administrados por vía parenteral como no parenteral, ya que pueden alterar los mecanismos protectores a través de una disminución de la secreción del HCO_3^- . Este tipo de fármacos causan daño micro vascular y retrasan la cicatrización del epitelio. Otros fármacos capaces de producir lesiones gástricas son el ácido valproico, agentes quimioterapéuticos, el KCl y el alcohol. En relación a los estudios sobre la acción de los corticoides son poco concluyentes y se piensa que pueden lesionar la mucosa gástrica ocasionalmente a dosis elevadas (Muñoz 2014).

La clasificación de los tipos de úlceras que se encuentran en la bibliografía son innumerables, sin embargo la clasificación de Johnson es la más utilizada (Cuadro 5).

Cuadro 5. Clasificación de Johnson de las úlceras gastroduodenales (Ancheta, 2011; Guzmán, 2011).

Clasificación	Descripción
TIPO I	Úlceras únicas en la curvatura menor
TIPO II	Úlceras gástricas asociadas con úlcera duodenales
TIPO III	Úlceras pre-pilóricas
TIPO IV	Úlcera gástrica alta (cerca al fondo)
TIPO V	Estómago con úlcera múltiples

Las úlceras pépticas o *ulcus* son una lesión de la piel o membrana mucosa, crateriforme (con forma de un cráter al perderse parte del tejido) y con escasa o nula tendencia a la cicatrización. Este tipo de úlcera péptica afecta la mucosa que recubre el estómago o el duodeno (la primera parte del intestino delgado). Su formación es por defectos de la mucosa gastrointestinal que se extiende por la lámina muscular de la mucosa y que persisten como consecuencia de la actividad ácido péptico del jugo gástrico. Desde 1980 se revolucionó el conocimiento acerca de los mecanismos de las úlceras pépticas. Hay pruebas de que la úlcera péptica ocurre primordialmente en dos formas: la que se relaciona con *H. pylori* y la vinculada al consumo de antiinflamatorios no esteroideos. Por otro lado, se ha observado que al igual que con las úlceras duodenales, la erradicación de la infección por lo general cura la enfermedad, en caso que la úlcera gástrica no se deba a los AINES (Beales, 2015).

2.7 Fármacos utilizados para el tratamiento de la gastritis

Dentro de los fármacos más utilizados para estas afecciones existen los compuestos con pH alcalino, como las sales de aluminio y magnesio, disminuyendo la sensación de malestar sin embargo provocan efectos de rebote, los medicamentos inhibidores de la bomba de protones (IBP), los cuales actúan reduciendo la producción de ácido, tales fármacos son: Omeprazol, Pantoprazol, Lansoprazol y Rabeprazol. Otros fármacos son también los inhibidores de histamina H₂ cuyo mecanismo es bloquear la acción de la histamina a través del bloqueo de sus receptores. disminuyendo la producción de ácido gástrico (p.e. Ranitidina y Famotidina) y fármacos como el subsalicilato de Bismuto sin embargo dentro de los efectos adversos son estreñimiento, lengua negra, heces oscuras, tinnitus (una sensación de zumbido en los oídos) (Medina, 2011).

Dentro de las principales proteínas afectadas en procesos gástricos y que pueden ser indicadores de inflamación, lesión y respuestas inmunológicas son las citocinas,

interleucinas (IL), COX-1 y COX-2, TNF- α , por mencionar algunos, que pueden dar pauta a la investigación de nuevos fármacos.

2.8 Propiedades generales de las citosinas

Las citocinas son un grupo de proteínas o glicoproteínas secretadas, de bajo peso molecular (por lo general menos de 30 kDa) Aunque existen muchos tipos de células productoras de citocinas, dentro del sistema inmune natural, los macrófagos son las células más comprometidas en la síntesis de citocinas, mientras que en el sistema inmune específico son las células T colaboradoras (TH) ya que sus citocinas son esenciales para que se produzca la respuesta inmune, una vez activadas por el contacto con las correspondientes CPA (células presentadoras de antígeno). Se unen a receptores específicos de la membrana de las células donde van a ejercer su función, iniciando una cascada de transducción intracelular de señal que altera el patrón de expresión génica, de modo que esas células diana producen una determinada respuesta biológica. La producción de las citocinas suele ser breve (transitoria), limitada al lapso de tiempo que dura el estímulo (es decir, el agente extraño) En muchos casos ello se debe a que los correspondientes ARNm tienen una corta vida media (Narro, 2009).

A continuación se describen algunas de las citocinas de interés debido a su acción en el sistema gastrointestinal.

2.8.1 Ciclooxygenasa

La ciclooxygenasa productoras de prostaglandina. Es inhibida por los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) como la aspirina. Las prostaglandinas son un conjunto de sustancias de carácter lipídico derivadas de los ácidos grasos de 20 carbonos (p.e. eicosanoides), que contienen un anillo ciclo pentano y constituyen una familia de mediadores celulares, con efectos diversos, a menudo contrapuestos. Las prostaglandinas afectan y actúan sobre diferentes sistemas del organismo, incluyendo el sistema nervioso, el tejido liso, la sangre y el sistema reproductor; juegan un papel importante en regular diversas funciones como la

presión sanguínea, la coagulación de la sangre, la respuesta inflamatoria alérgica y la actividad del aparato digestivo (López ,2013).

La ciclooxigenasa 1 (COX-1), tiene como función la regulación de la proliferación de las células normales o neoplásticamente transformadas. La COX-1 es constitutiva en todos los tejidos especialmente en riñón y el tubo gastrointestinal. Participa en la producción de prostaglandinas que intervienen en procesos fisiológicos tales como: protección del epitelio gástrico, mantenimiento del flujo renal, la agregación plaquetaria, la migración de neutrófilos y también se expresan en el endotelio vascular. Se encuentra asociada al retículo endoplásmico de las células. Se han descrito dos pequeñas isoformas (PCOX-1a y PCOX-1b) de la COX-1. Estas proteínas derivan de un *splicing* alternativo del RNA mensajero del gen de la COX-1.

La ciclooxigenasa 2 (COX-2), tiene como función mediar en los procesos de inflamación y en la señalización por prostanoïdes. La COX-2 se expresa tras inducción inflamatoria, aunque es constitutiva en SNC y riñón. La expresión de la COX-2 es provocada por diversos mediadores inflamatorios (Interferón γ , factor de necrosis tumoral α , Interleucina 1, factores de crecimiento, etc.), en diversas células (monocitos, macrófagos, células endoteliales, sinoviocitos, condrocitos y osteoblastos) y tejidos (aparato reproductor, sistema nervioso central, estómago, riñón, pulmón y ciertos tejidos afectados por procesos neoplásicos). Se encuentra asociada a la envoltura nuclear de las células.

La ciclooxigenasa 3 (COX-3), son isoformas de la COX-1, se ha observado en humanos una abundante expresión del RNA mensajero de la misma en el córtex cerebral y el corazón. La inhibición de esta isoforma podría estar relacionada con el efecto antipirético de muchos AINE's (Sistemas de Nutrición, 2013).

La afinidad de cada receptor hacia su citosina correspondiente suele ser bastante alta, del orden del (10^{-15} Molar) a picomolar (10^{-12} pM). Al igual que con las hormonas, la acción

de las citocinas se puede clasificar en: autocrina, paracrina, endocrina clásica (en pocas ocasiones) estructura proteica, muchas de las citocinas pertenecen a la llamada familia de las hemopoyetinas, y tienen estructuras terciarias parecidas: una configuración a base de un conjunto de cuatro hélices alfa, con escasos dominios en lámina beta.

2.8.2 Principales tipos de respuesta por la acción de las citocinas

Generalmente actúan como mensajeros intercelulares produciendo:

- a) Activación de los mecanismos de inmunidad natural como es la activación de los macrófagos y otros fagocitos; la activación de las células NK; activación de los eosinófilos y la inducción de la síntesis de proteínas de fase aguda en el hígado
- b) Activación y proliferación de células B, hasta su diferenciación a células plasmáticas secretoras de anticuerpos.
- c) Intervención en la respuesta celular específica.
- d) Intervención en la reacción de inflamación, tanto aguda como crónica.
- e) Control de los procesos hematopoyéticos de la médula ósea.
- f) Reparación tisular.

Las citocinas siendo inespecíficas respecto del antígeno, pueden ejercer acciones de modo específico (Figura 7). Son varios los mecanismos que explican esta particularidad:

- a) Regulación muy fina de los receptores de cada citocinas: los receptores se expresan en determinadas células una vez que éstos han interactuado con el antígeno
- b) Requerimientos de contactos estrechos célula a célula: la citocinas sólo alcanza concentraciones adecuadas para actuar en el estrecho espacio que queda entre dos células

que interactúan, por ejemplo las "bolsas" que se forman en el complejo TH: B, donde se alcanzan mejor esos niveles de citocinas.

c) Corta vida media de las citocinas en sangre y fluidos: lo que asegura que sólo van a actuar en un estrecho margen de tiempo, en las cercanías de la zona donde se produjeron.

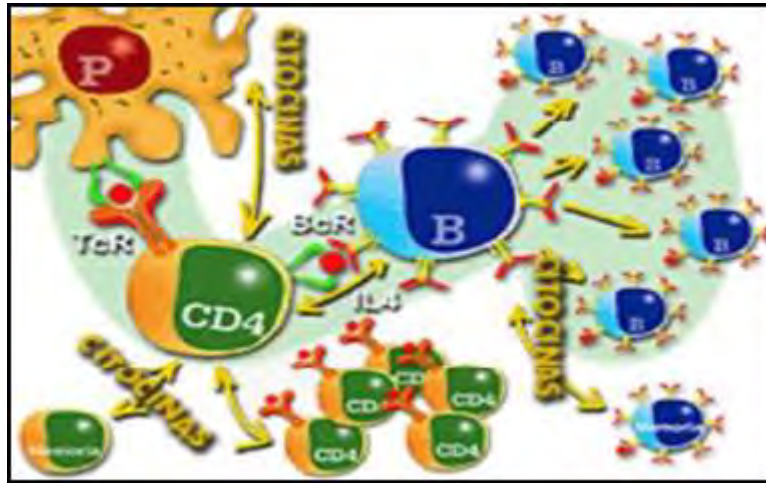


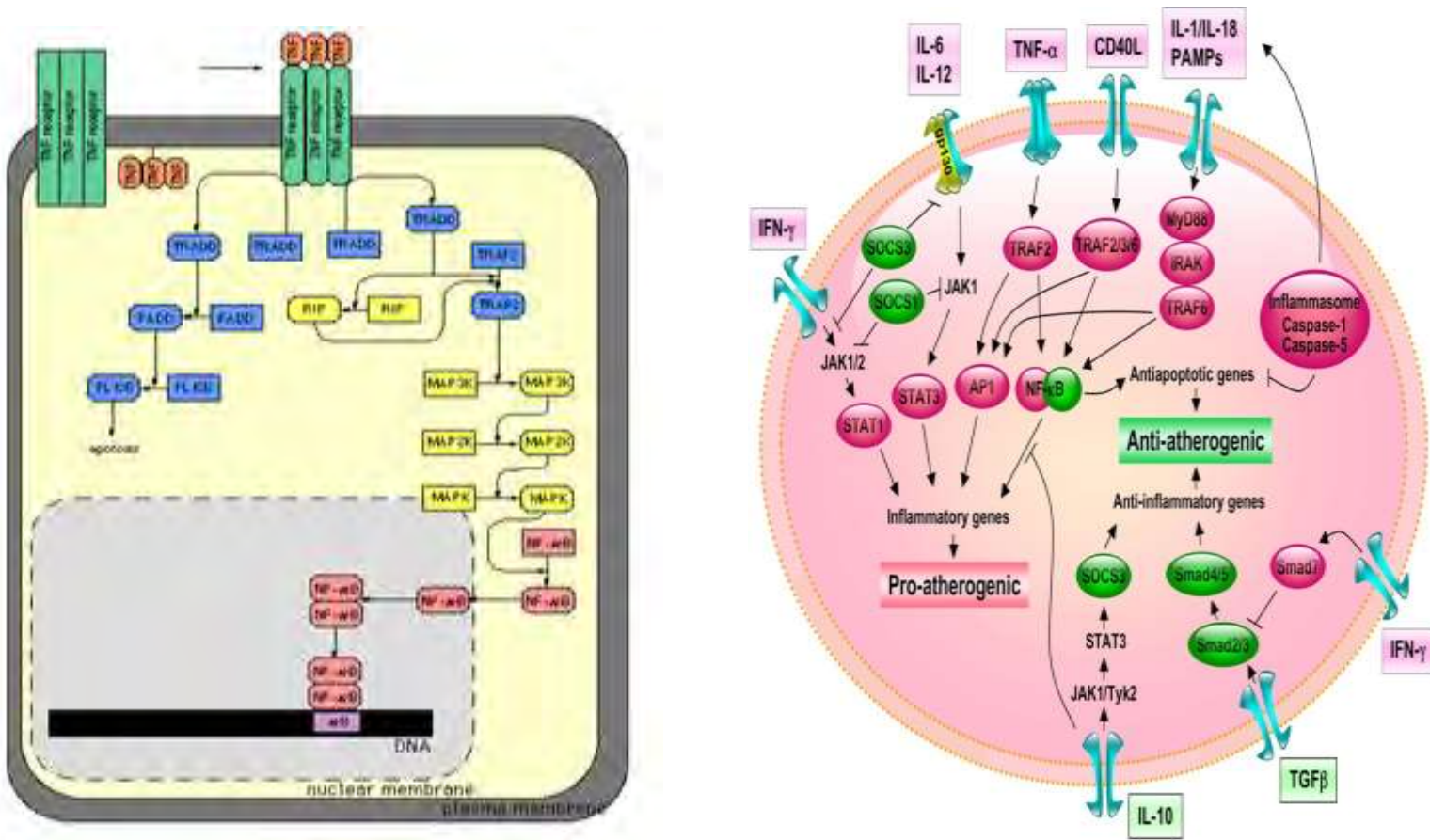
Figura 7. Acción de las citosinas sobre la célula (William, 2004)

2.8.3 Receptores de citocinas

Existen diferentes clases de receptores de membrana para citocinas, pero se pueden agrupar en seis familias: receptores de la súper familia de las inmunoglobulinas que poseen varios dominios extracelulares de tipo IgG (Figura 8).

Como ejemplo: IL-1A, IL-1B, IL-16. Receptor de factores de crecimiento hematopoyéticos o clase I. Pertenecen a la familia de receptores alfa, beta y gamma. Se han reconocido en este grupo, las siguientes citocinas: IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15, GM-CSF (factor estimulante de colonias granulocitos-monocitos) y G-CSF (Factor estimulador de colonias de Granulocitos).

Figura 8. Vías de las citocinas (William, 2004).



El receptor para el GM-CSF (Figura 9) se expresa en los PMN como una clase única de alta afinidad (KD de 199 pM; entre 300 a 2800 receptores por célula).

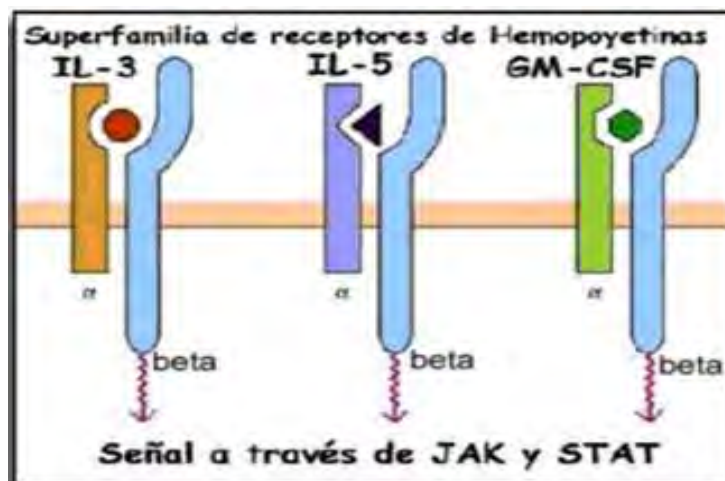


Figura 9. Receptores de Interleucina (William, 2004).

Los progenitores mieloides, eritrocitos, células dendríticas, megacariocitos, células plasmáticas, ciertos linfocitos T, células endoteliales, eosinófilos, macrófagos, monocitos y células mieloides leucémicas expresan receptores, las dos últimas de afinidad intermedia (kD de 10 a 40 pM) y el resto de baja afinidad ($K_d < 2\text{pM}$) familia de receptores de interferones o familia de clase II: tienen receptores alfa y beta. Ejemplos: interferón ($\text{IFN-}\alpha$ y β) y el $\text{IFN-}\gamma$. Familia de receptores del Factor de Necrosis Tumoral: sus miembros se caracterizan por un dominio extracelular rico en cisteínas. Ejemplos de ligandos: $\text{TNF-}\alpha$, $\text{TNF-}\beta$, CD40. Familia de receptores de quimiosinas: son proteínas integrales de membrana con 7 hélices alfa insertas en la bicapa lipídica. Interaccionan con la porción citoplasmática con proteínas de señalización triméricas (Proteína G) que unen GTP. Ejemplos: IL-8, RANTES, PAF (Factor activador de plaquetas) receptores de factores de crecimiento transformante (TGF): pertenecen a ésta familia TGF α y TGF β . La mayor parte de los receptores de citocinas del sistema inmune pertenecen a la familia de clase I (de receptores de hematopoyéticas) todos sus miembros tienen en común una proteína anclada a membrana, con un dominio extracelular en el que hay al menos un motivo característico llamado CCCC (cuatro cisteínas cercanas en posiciones equivalentes) y el llamado motivo WSXWS (Trp-Ser-X-Trp-Ser) tras su porción transmembrana se encuentra una larga cola citoplasmática con ciertas tirosinas susceptibles de fosforilación (Douglas, 1987).

La mayor parte de los receptores de clase I (Figura 10) poseen dos proteínas de membrana: Cadena alfa, que es la subunidad específica de la citocinas sin capacidad de enviar señales al citoplasma; cadena beta, una subunidad transductora de señal que a menudo no es específica de una sola citocinas, sino que es compartida por receptores de otras citocinas, este hecho permite explicar dos cualidades a las que ya hemos aludido: la redundancia y el antagonismo.

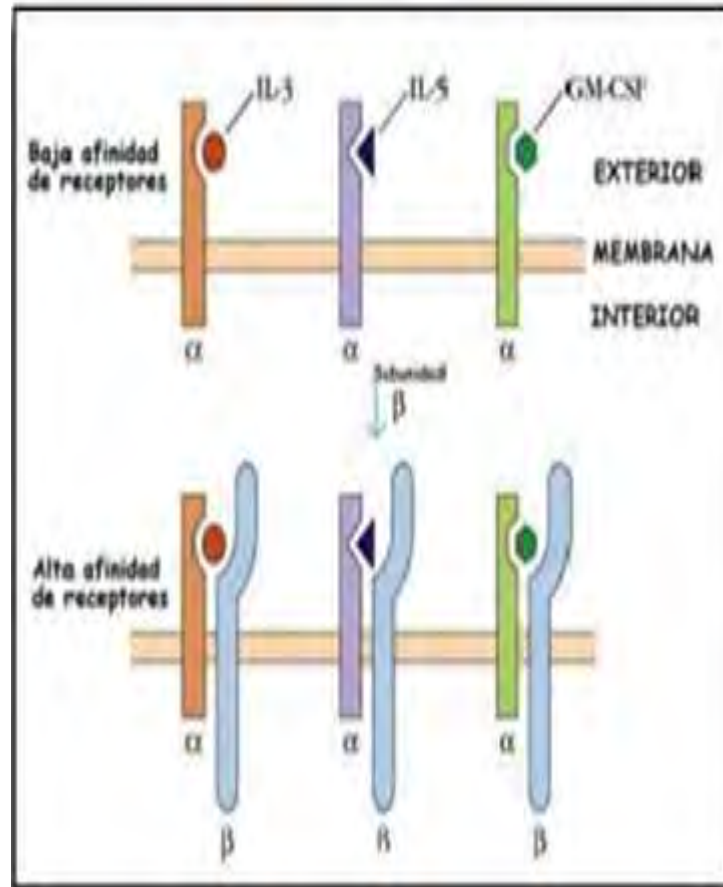


Figura 10. Receptores de Clase I (William, 2004).

2.8.4 Factores de necrosis tumoral

El factor de necrosis tumoral (TNF) tiene un importante rol en el sistema inmunitario del huésped. Es un mediador de la inflamación local, vital para mantener localizadas las infecciones. La liberación de TNF- α produce activación local del endotelio vascular, liberación de óxido nítrico con vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular. Esto lleva al reclutamiento de las células inflamatorias, inmunoglobulinas y complemento, provocando la activación de los linfocitos T y B. También aumenta la activación y adhesión plaquetaria y probablemente, la oclusión vascular sea la causa de la necrosis tumoral de donde proviene el nombre. Las acciones del TNF se deben a sus ligaduras a dos receptores celulares diferentes que se hallan en células distintas como neutrófilos, células endoteliales y fibroblastos. Además estos receptores se encuentran en estado solubles en el suero y en

el líquido sinovial. Aunque localmente los efectos del TNF- α son benéficos, sistemáticamente pueden llevar a síndromes como el shock séptico y la coagulación diseminada. En la artritis reumatoide (AR) se demostró un aumento de TNF- α sérico, aumento de los productos de los macrófagos (TNF- α , IL-1, IL-6, e IL-8) en el líquido y tejido sinovial, en correlación con la severidad de la enfermedad y, lo más importante, mejoría clínica cuando la terapéutica se dirige contra TNF. Son posibles dos nuevos enfoques para disminuir la actividad de TNF: tratamientos con anticuerpos anti-TNF- α y la administración de receptores solubles de TNF (Flores, 2002).

En el Cuadro (6) se muestra el resumen de los principales efectos de las citocinas: IL-1 a IL-18 y en el Cuadro (7) se muestran los efectos para interferones, TNF y CSF.

Cuadro 6. Principales efectos de las citocinas (Flores, 2002).

Citocina	Peso Molecular (Kd)	Origen	Principales efectos
INTERLEUCINAS			
IL-1 α	15-17	Monocitos-Macrófagos	Fiebre (pirógeno endógeno), sueño, anorexia, inflamación, expresión de CD 54 en las células endoteliales y liberación del factor tisular, activación linfocitaria, producción de IL-6 Y CSF.
IL-1 β			
IL-2	15-15	Células T	Induce la proliferación de la célula T, coestimula la proliferación y diferenciación de la célula B.
IL-3	14-28	Células T, Mastocitos,	Potencia a las NK y LAK (agresoras activadas por linfoquinas)
IL-4	20	Células T, Mastocitos	Induce la proliferación del mastocito, proliferación de la célula hematopoyética pluripotencial
IL-5	45	Células T, mastocitos	Induce la proliferación de la célula T y la generación de LTC,coestimula la proliferación de la célula B, sinergiza con la IL-3 en la proliferación del mastocito, estimula la producción de Ig E e Ig G 4, induce la expresión y liberación de CD 23,la clase II del CMH en la células B, cambia de T_H a T_{H2} .
IL-6	23-30	Monocitos, Fibroblastos	Induce la diferenciación de eosinófilos y la producción de Ig A
IL-7	25	Células de la médula ósea y del estroma tímico	Pirógena, induce la proliferación de plasmocitomas e hibridomas, aumenta la producción de Ig, la clase I en los fibroblastos, acción con la IL-2 en la producción de Proteínas de Fase Aguda por lo hepatocitos, acción sinérgica con la IL-3 en la producción de la célula hematopoyética, induce la diferenciación del LTc. Induce la proliferación de las células pro y pre B de los linfocitos inmaduros
IL-8 (quimioquina)	6.5	Monocitos, células endoteliales, macrófagos alveolares, fibroblastos.	Induce la quimiotaxis y activación de neutrófilos y células T.
IL-9	30-40		
IL-10	17-21	Células T	Induce la proliferación de algunas células T, potencia la proliferación del mastocito inducida por la IL-3.
IL-11	24	Células T, células B activadas y monocitos.	Inhibe la activación del MAC,estimula la producción de célula B y la producción de Ac, estimula los mastocitos y cambia de T_H a T_{H2} .
IL-12	75	Células del microambiente hematopoyético	Estimula la producción de Ac, acción sinérgica con la IL-3 en la producción de megacariocitos, estimula los progenitores del macrófago.
IL-13	10	Monocitos, macrófagos, algunas células B y mastocitos.	Activa a las NK para secretar IFN-gamma, cambia T_H a T_{H1} , inhibe la producción de Ig E inducida por la IL-4.
IL-14	?	Células T	Induce la proliferación y diferenciación de células B e inhibe la producción de IL-1.
IL-15	14-15	Células B y macrófagos	Induce la secreción de Ig E.
IL-16	56	Células T	Induce la proliferación de la célula B
IL-17	20-30	Células no linfoides, musculares	Induce la proliferación y citotoxicidad de las células de las NK, diferenciación de la célula NK.
IL-18	?	Células endoteliales y monocitos.	Inmunomodulatoria.

Cuadro 7. Descripción de las citocinas y su actividad tumoral (Flores, 2002).

INTERFERONES			
IFN- α	18-20	Linfocitos	Coestimula la producción de la célula T, induce la secreción de la IL-6, IL-8 y G-CSF a partir de las células endoteliales, epiteliales y fibroblástica.
IFN- β	20	Fibroblastos y células amnióticas	Incrementa la expresión de antígenos de clase I y II HLA. Y la actividad de células NK. Induce el factor inductor del IFN-gamma similar a la IL-1.
IFN- γ	20-25	Linfocitos CD 4+ y CD 8+, células NK y Th 1.	Posee efectos antivirales e inmunomodulatorios. Es quimiotáctico para monolitos y aumenta en ellos la expresión de HLA clase I.
FACTORES DE NECROSIS TUMORAL (TNF)			
TNF- α (caquectina)	17	Fibroblastos, células NK, neutrófilos, astrositos, células endoteliales y células del músculo liso.	Proinflamatorio, antitumoral. Agente neovascularizante y estimulante de la resorción ósea.
TNF- β (linfotóxina)	25	Linfocitos	Idem anterior.
FACTORES ESTIMULANTES DE COLONIAS (CSF)			
GM-CSF	14-35	Células T, endoteliales, macrófagos, y fibroblastos	Estimulación de proliferación y diferenciación de precursores mieloides, potencia las funciones de neutrófilos y monocitos maduros (lisis y fagocitosis)
G-CSF	18-22	Monocitos-macrófagos, células endoteliales, células T, neutrófilos y fibroblastos.	Estimula la proliferación y diferenciación de la línea de granulocitos neutrófilos. Estimula la actividad de PMN maduros.
M-CSF	70-90	Monocitos-macrófagos, células endoteliales y fibroblastos.	Estimulación de diferenciación de precursores hemopoyéticos hacia la línea monolítica. Funcionalidad de monolitos y macrófagos maduros.
Eritropoyetina	30	Células intersticiales peritubulares renales, hígado y macrófagos de médula ósea.	Regula la producción de eritrocitos en condiciones normales y recuperación post anémica.
Trombopoyetina	18-70	Hígado, riñón y músculo liso. En menor proporción en bazo y células ítem.	Estimula la proliferación y la diferenciación de las células progenitoras megacariocíticas. Aumenta la producción plaquetaria.
FACTORES ESTIMULADORES DEL CRECIMIENTO			
PDGF		Plaquetas	Activa la activación plaquetaria, principalmente actúa regulando mecanismos de adherencia.
TGF- α	5-20	Monocitos, fibroblastos y células endoteliales	Induce la proliferación de los progenitores de los granulocitos y de los monocitos, activa a los macrófagos, aumenta producción de Leucotrienos en el eosinófilo, actividad tumoricida del monocito. Induce la proliferación del granulocito.
TGF- β	25	Monocitos, fibroblastos y células endoteliales	Induce la proliferación de monocitos
FGF		Tejido conectivo	Proliferación de fibroblastos, síntesis de colágena y macromoléculas de matriz intersticial
EGF		Células de lámina basal epidermal	Crecimiento y diferenciación de epitelios
ILGF-1	55-70	Hígado y células del sincitiotrofoblasto respectivamente	Promueve proliferación y diferenciación de múltiples tejidos contribuyendo al desarrollo corporal postnatal y embrionario.
ILGF-2			
QUIMIOCIAS			
C (carece del primer y tercer residuo cisteína conservados) Ej: LINFOTAXINA (LPTN)	Variable	Plaqueta, placenta, riñón, hueso, células T y B.	Induce la angiogénesis, la proliferación de los queratinocitos, la resorción ósea y la proliferación tumoral.
C-C varios ej: MIP-1a, RANTES, MIP-1b, EOTAXINAS, MCP-1 Y MCP-3	Variable	CD8 mastocitos activados,	Induce la quimiotaxis de las células T y NK
CXC (varios ej: IL-18, IP-10, SDF.	Variable		Induce la quimiotaxis de las células T, NK, basófilos y eosinófilos.

Debido a los diversos factores que pueden ocasionar gastritis y úlceras así como la diversidad de familias de medicamentos con diferentes mecanismos de acción para el

tratamiento, los efectos adversos son el principal factor para la búsqueda de nuevos tratamientos alternativos, siendo la fitofarmacología una herramienta que nos permite realizar estudios para evaluar componentes naturales ya sea de frutos o plantas que pueden tener efectos terapéuticos (Vanaclocha, 2006). Una alternativa al uso de fármacos es el uso de plantas; como *Rubus fruticosus* y extractos de frutos como el *Citrus Limonum* Risso (Waldman, 2010).

2.9 *Rubus fruticosus* (Hoja de zarzamora)

Las hojas de *Rubus fruticosus* son imparipinnadas, compuestas por 3 o 5 folíolos peciolados y puntiagudos, bastante variables, de forma elíptica ovada u obovada, con borde dentado o aserrado, de color verde oscuro por el haz y blanco-tomentoso por el envés. Esta especie de planta perteneciente a la familia de las rosáceas (Salazar, 2006; Sánchez, 2008).



Figura 11. Hoja de zarzamora (JK Marlow s080423_a2April Roadside Greenville County SC).

2.9.1 Taxonomía

SUPERREINO: *Eukaryota*

REINO: *Plantae*

PHYLUM: *Magnoliophyta*

CLASE: *Magnoliopsida*

SUBCLASE: *Rosidae*

ORDEN: *Rosales*

FAMILIA: *Rosaceae*

SUBFAMILIA: *Rosoideae*

GENERO: *Rubus*

ESPECIE: *fruticosus*

2.9.2 Propiedades vulnerarias y valor nutricional

Las hojas y los tallos jóvenes de las zarzamoras constituyen uno de los mejores vulnerarios porque sirven para remediar las llagas y heridas de la piel. La zarzamora constituye una de las plantas vulnerarias más reconocidas como son el tratamiento contra úlceras de la piel, úlceras o llagas en la boca (aftas bucales), anginas, forúnculos, inflamaciones de lengua y laringe, problemas de encías y tratamiento externo de las hemorroides. Así mismo es importante mencionar las propiedades antiinflamatorias de algunos de sus componentes (estigmasterol y ácidos ascórbico, clorogénico, ferúlico y ursólico) que ayudan a disminuir la hinchazón que se produce en muchas de las heridas.

Todas estas propiedades combinadas hacen de esta planta un buen aliado para el tratamiento de las heridas externas; el líquido resultante de la infusión de un puñado de hojas ayuda a cicatrizar lesiones, llagas o úlceras externas en las piernas, las manos u otras partes externas del cuerpo, combatiendo la pus (Juárez, 2015). Por otro lado los frutos de zarzamora contienen un elevado porcentaje de agua, alrededor del 80% de su peso total. Posee vitaminas especialmente las vitaminas C, E y A, sales de calcio, potasio, hierro, manganeso y ácidos orgánicos (málico, cítrico, láctico, succínico, oxálico y salicílico). Tienen un alto contenido en fibra, sin embargo, lo que en realidad caracteriza a estas frutas es su abundancia de pigmentos naturales que además de conferirle su color y sabor característico tienen acción antioxidante. Además, este alimento cuenta con una serie de ácidos naturales con propiedades anticancerosas (Ácidos clorogénico, ferúlico, ursólico y málico) (Wrolstad et al., 1980; Cajuste et al., 2000; Rieger, 2006). Además de otros

compuestos como son los taninos hidrolizables, hidroquinona, arbutina, flavonoides, pequeñas cantidades de aceite esencial, goma y lípidos, y ácido cítrico; que están presentes en las hojas de *Rubus fruticosus*.

2.9.3 Hidroquinona

La hidroquinona produce despigmentación reversible de la piel al impedir los procesos metabólicos de los melanocitos. En particular inhibe la enzima tirosinasa, que transforma la tirosina en melanina. Consecuentemente, se altera la estructura de los melanomas, lo que puede ocasionar un descenso de la producción o un incremento de la degradación de estos orgánulos, o ambos procesos a la vez. Además, se ha comprobado, que la hidroquinona induce efectos necróticos sobre el melanocito, a través de un daño intracelular directo. El 1,4-Dihidroxibenceno (Figura 12), es el nombre químico de esta sustancia, la apariencia física de la hidroquinona perteneciente a la familia química de los fenoles, es un polvo blanco cristalino, inodoro, que se combina fácilmente con el oxígeno, provocando una reacción de oxidación, además, reacciona con la luz solar y en una reacción fotoquímica tiende también a oscurecer. La hidroquinona se utiliza también como bronceador de la piel y en la elaboración de productos químicos para el revelado de fotografía y radiografía (González, 2002).

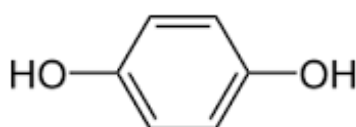


Figura 12. Estructura química de la Hidroquinona (Juárez, 2015).

2.9.4 Arbutina

La arbutina está presente en un sin número de plantas, se extrae de las hojas de guayaba (*Arctostaphylos uva-ursi*) (Hernández, 2008) arándano, zarzamora, como también en la mayoría de los tipos de pera; es un precursor de la hidroquinona, la cual como ya se había

mencionado anteriormente posee propiedades antimicrobianas, astringentes y desinfectantes (Sánchez, 2008) y es menos citotóxica que ésta, lo que la hace una alternativa segura en el tratamiento de hiperpigmentaciones.

Actúa como un inhibidor reversible de la tirosinasa, la arbutina no se hidroliza para liberar la hidroquinona, por lo que ésta no es la responsable de la inhibición de la melanogénesis; se ha demostrado que la arbutina inhibe la producción de melanina en cultivos de melanocitos humanos, lo que apoya su uso en el vitiligo y otras afecciones cutáneas de este tipo (Peña B. Constanza, *et. al.*, 1998). Se utiliza en forma de cremas, lociones y geles blanqueadores, sola o en combinación con otros agentes despigmentantes. Es utilizada como blanqueante y despigmentante en productos cosméticos por su acción inhibidora de la formación de melanina. Tradicionalmente se ha utilizado como desinfectante urinario por su actividad diurética, antimicrobiana y antiinflamatoria (Pharmabooks, 2010).

Estructuralmente, los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (Figura 10). La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química (Rivas, 2002 y Juárez, 2015). Estos compuestos se distribuyen en las plantas vasculares de manera ubicua y la variedad de sus propiedades biológicas ha llamado poderosamente la atención de los investigadores, de modo que, hoy día, es el grupo de polifenoles más estudiado.

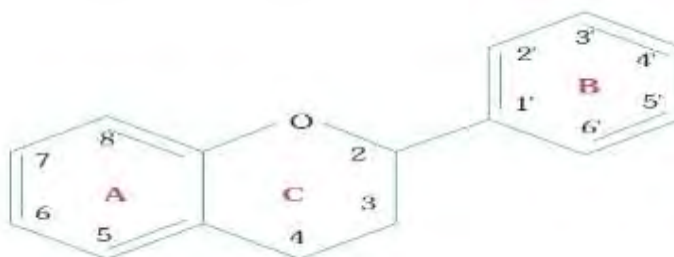


Figura 13. Polifenoles y Flavonoides (Juárez, 2015).

Dentro de las propiedades que se han descrito para los flavonoides son antioxidantes, antiinflamatorias, antiagregantes, antihemorrágicas, vasodilatadoras, antineoplásicas, antivirales, antibacterianas, antialérgicas y hepatoprotectoras (Hassimotto, 2008; Álvarez, 2003; Orallo, 2003). Las antocianinas son colorantes naturales que pertenecen a la familia de los flavonoides y son los responsables de color rojo intenso a colores azules o morados. Son pigmentos solubles en agua. Las antocianinas son pigmentos responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul de muchas frutas, vegetales y cereales. El interés en estos pigmentos se ha intensificado gracias a sus posibles efectos terapéuticos y benéficos, así como a su potencial antioxidante ayudan en la reducción de la enfermedad coronaria, los efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo, así como protección contra la radiación solar. En promedio 100 g de fruta fresca en el caso de la zarzamora contienen de 83 a 326 mg de antocianinas. Se encuentran ampliamente distribuidos (aunque no en concentraciones altas) en flores y frutos principalmente en los granos o semillas, además de que juegan un papel muy importante en el mecanismo de protección de las plantas al ataque de insectos (Hassimotto, 2008; Garzón, 2008).

2.9.5 Taninos

Los taninos (Figura 14) son metabolitos secundarios de las plantas, los taninos comprenden un grupo heterogéneo de polifenoles en plantas, solubles en agua, y tienen un peso molecular de entre 500 y 3000D usualmente dan reacciones fenólicas (coloración azul con cloruro de hierro III, y precipitan con alcaloides, gelatinas y otras proteínas). Contienen suficientes grupos fenólicos hidroxilo que permiten la formación de enlaces estables con las proteínas (Santos, 2000; Scalbert, 2000).

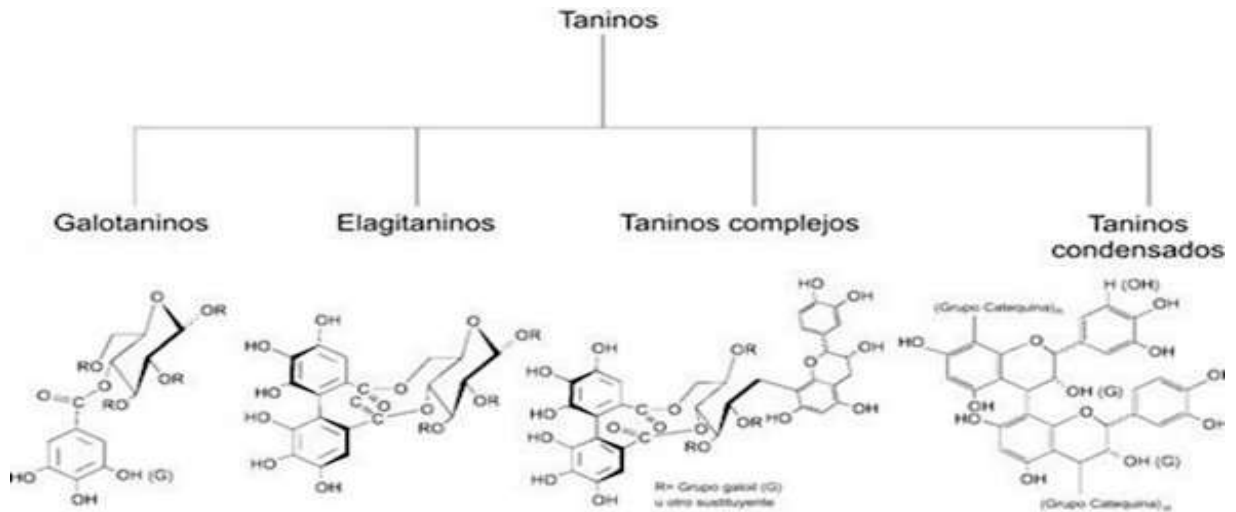


Figura 14. Clasificación de los taninos (Van Ree, 2001)

Los alimentos ricos en taninos tienen una características astringentes al probarlos, debido a los enlaces con las proteínas. Tienen una gran importancia en el procesamiento de alimentos, maduración de los frutos, y la elaboración de té, chocolate y vino. Se utilizan como agentes clarificantes y antioxidantes en el vino, cerveza y la industria de jugos de frutas. Los taninos tienen un papel importante en la cicatrización ulcerosa y hemostática, al detener el sangrado. Al constreñir los vasos sanguíneos ayudan a la coagulación de la sangre y, por tanto, contribuyen a la curación de las heridas (Juárez, 2015).

Otro de los productos de interés debido a la amplia gama de usos terapéuticos es el limón.

2.9.6 *Citrus limonum* Risso (Limón)

El fruto *Citrus limonum* Risso (limón, Figura 15) es un hesperidio de hasta 12.5 cm, de corteza gruesa y de un amarillo fuerte cuando está bien maduro. Cultivado por sus frutos y como árbol de jardín en zonas cálidas mediterráneas junto al mar. Probablemente deriva de las especie "*Citrus medica* L.", natural de la India.



Figura 15. *Citrus limonum* Risso (Fundación Wikimedia, Inc.)

2.9.7 Taxonomía

Reino: vegetal

Clase: Angiospermae

Subclase: Dicotiledonea

Orden: Rutae

Familia: rutáceas

Género: Citrus

Subgénero: Eucitrus

Especie: Citrus limonum Risso

2.9.8 Componentes activos

Los principales componentes son flavonoides: hesperidósido, limocitrina en el pericarpio de los limones españoles. Ácidos: Ascórbico (Vitamina C), cítrico, caféico (fruto) - Aceite esencial : rico en isopulegol, alfabergamoteno, alfa pineno, alfa terpineno, alfa tujeno, beta bisolobeno, beta bergamoto, beta felandrio, citral, limoneno y sabineno, cafeína en hojas, pectina y minerales como el potasio y calcio (Hassimotto, 2008; Garzón, 2008).

2.9.9 Propiedades terapéuticas

Dentro de las propiedades medicinales atribuibles al aparato digestivo son en casos de intestinos demasiado proclives a una defecación excesiva, resulta útil para detener diarreas, para problemas digestivos, además de propiedades anti-ulcéricas que le confiere el beta bisolobeno, eliminando la acidez gástrica. Se utiliza en caso de insuficiencia hepática, por estimular el hígado, Antiescorbútico y vitamínico: (debido al alto contenido de vitamina C), y mineralizaste, siendo muy rico en potasio y calcio, además de su capacidad para regenerar los glóbulos blancos lo hace muy adecuado para potenciar las defensas del organismo, previniendo la aparición de muchas enfermedades. Con respecto a las propiedades químicas del limón se observa claramente que tiene un alto contenido en calcio, fósforo, potasio, carbohidratos, fibra, proteína, vitamina A y vitamina C.

Por otro lado, podemos mencionar que ambos extractos (*Rubus fruticosus* y *Citrus Limmonun Risso*) presentan agentes antioxidantes y estos tienen la capacidad de regeneración de la mucosa intestinal, la cicatrización y podrían ser utilizados como agentes gastroprotectores siendo una excelente opción de tratamiento alternativo por sus diversas propiedades y nula respuesta a reacciones adversas y de daño a futuro en los órganos diana (estómago, hígado y riñones principalmente) (Hassimotto, 2008; Garzón, 2008).

3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente el uso de las plantas medicinales en los tratamientos para diversas enfermedades ha permitido establecer una fuente alternativa de remedios de bajo costo que ofrecen productos confiables y con menores efectos adversos al consumidor y responsables con el medio ambiente y que además poseen una actividad terapéutica, ya sea para prevenir o para aliviar las enfermedades que contribuya a racionalizar y modernizar las terapias actuales de medicina clásica, ajustándose a los requisitos básicos

de seguridad, calidad y eficacia. Por lo anterior, en este trabajo se propuso determinar la actividad de TNF- α , COX-2 y IL-1 β y la relación con los efectos regenerador y cicatrizante mediante la evaluación inmunohistoquímica en estómagos de ratas, que fueron tratadas con los extracto acuoso de las hojas de zarzamora (*Rubus fruticosus*) y de limón (*Citrus limonum* Risso) donde previamente se demostró dichos efectos.

4. OBJETIVO

Determinar la actividad de las citocinas TNF- α , IL-1 β y COX-2 mediante inmunohistoquímica en estómagos de rata previamente inducidos a úlcera gástrica previamente tratados con los extractos acuosos de *Rubus fruticosus* y *Citrus Limonun* Risso.

5. HIPOTESIS

Dado a los componentes (flavonoides, taninos, antioxidantes y el ácido cítrico) presentes en los extractos acuosos de *Rubus fruticosus* y *Citrus Limonum* Risso, que actúan de forma directa en los procesos antiinflamatorios y de cicatrización, se espera que disminuya la presencia de las citosinas TNF- α , IL-1 β Y COX-2 en las muestras de los estómagos de las ratas.

6. DESARROLLO EXPERIMENTAL

6.1. Material Vegetal

El material vegetal (hojas de zarzamora; *Rubus fruticosus*) y el fruto (limón; *Citrus Limonum* Risso) fueron obtenidos del Mercado de Sonora, y se realizó la inspección visual del material vegetal proporcionado para determinar sus características físicas: forma, color, olor y apariencia, respectivamente.

6.1.2 Reactivos

Para los controles positivos se utilizó Ranitidina (Ranisen, Jensen ®), Famotidina (Genfar, Sanofi ®), Omeprazol (Genoprazo, Genoma Lab®), Pantoprazol (Pantop, Nicomed®) y Bisulfato de Bismuto (Pepto Bismol ®).

6.1.3 Reactivos biológicos

Se utilizaron ratas de la cepa Wistar de 150g ± 50 g de peso. Las especies animales utilizadas fueron proporcionadas y alojadas por la unidad de Bioterio de la Facultad de Química, UNAM. Los animales se mantuvieron bajo condiciones controladas de luz, temperatura y humedad, con acceso de alimentos y agua *ad libitum*, de acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999. “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio”. Así mismo, en la realización de este trabajo se tomaron en consideración los procedimientos éticos descritos en la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, así como los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

6.2 Obtención de los extractos acuosos de *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum* risso

La obtención del extracto acuoso de las hojas de zarzamora (*Rubus fruticosus*) se realizó por el método de infusión, primero se llevó a cabo el proceso de desecado, mediante la extensión de las hojas en una charola de acero inoxidable a temperatura ambiente. Una vez que las hojas estuvieron secas, se realizó la fragmentación de estas para aumentar la superficie de contacto y así extraer los componentes. Para realizar la infusión, se pesó 12.5 g del material vegetal seco en una balanza analítica (Mettler Toledo) y se depositó en un matraz bola de 250 ml, se vertió 125 mL de agua destilada y se llevó a ebullición. Se filtró por gravedad. Se realizaron las diluciones pertinentes para obtener la concentración final de [100mg/mL] del extracto (Muñoz, 2013). En el caso del extracto de *Citrus Limonun*

Risso, se pesaron 5 frutos verdes y fueron exprimidos extrayendo el contenido, previamente filtrado. Se realizó la descripción de color, olor y se determinó el pH para ambos extractos. Posteriormente para la inducción de la úlcera gástrica en ratas (Figura 16) se administró etanol absoluto 30 minutos antes de la administración de los extractos (*Rubus fruticosus* y *Citrus limonum Risso*) y de los controles positivos de forma independiente correspondientes (Modelo E/T, para determinar el efecto de regeneración o cicatrización del tejido) donde en cada grupo se utilizó una n=5 animales, después de la hora post-administración se realizó la eutanasia y se fijaron los estómagos en formaldehído al 10% para su posterior inclusión en parafina (Muñoz, 2014). Se realizó el mismo procedimiento para el modelo T/E, en donde primero se administró el tratamiento y posteriormente se indujo las lesiones con EtOH para determinar el efecto gastroprotector.

La figura (16) muestra el diagrama, que se empleó para inducir úlcera gástrica a las ratas wistar y obtener las muestras de estómago dañado.

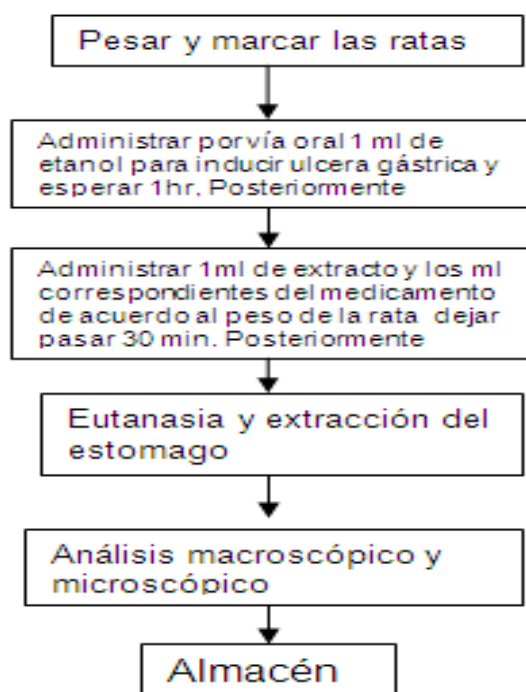


Figura 16. Diagrama de método, para analizar efecto cicatrizante.

Para la inclusión de los tejidos en parafina, se realizó la deshidratación de los tejidos mediante el esquema de Etano/Xilol de 30 al 100% respectivamente, posteriormente se

incluyeron en parafina, cada uno de los bloques fueron debidamente identificados para su posterior uso. Se realizaron cortes de micras mediante un en micrótomo y se fijaron el portaobjetos para posteriormente realizar la técnica inmunohistoquímica utilizando como anticuerpos primarios Alexa 480 y secundarios Anti-rabbit de fluorescencia se leyó y se determinaron las densidades ópticas para cada proteína evaluada. Se recopilaron los datos del número de lesiones y áreas para cada uno de los grupos evaluados así como de las densidades ópticas de las proteínas TNF- α , IL-1 β Y COX-2. La figura (17) muestra el diagrama que se empleó para la técnica de inmunohistoquímica.

Para el análisis de los resultados se realizó el Análisis de varianza de una vía (Anadeva) o Kruskal-Wallis dependiendo de si los datos cumplen con la prueba de normalidad y equivalencia, con $p < 0.05$, se utilizó como prueba *post-hoc*: Dunnet's para comparación de medias.

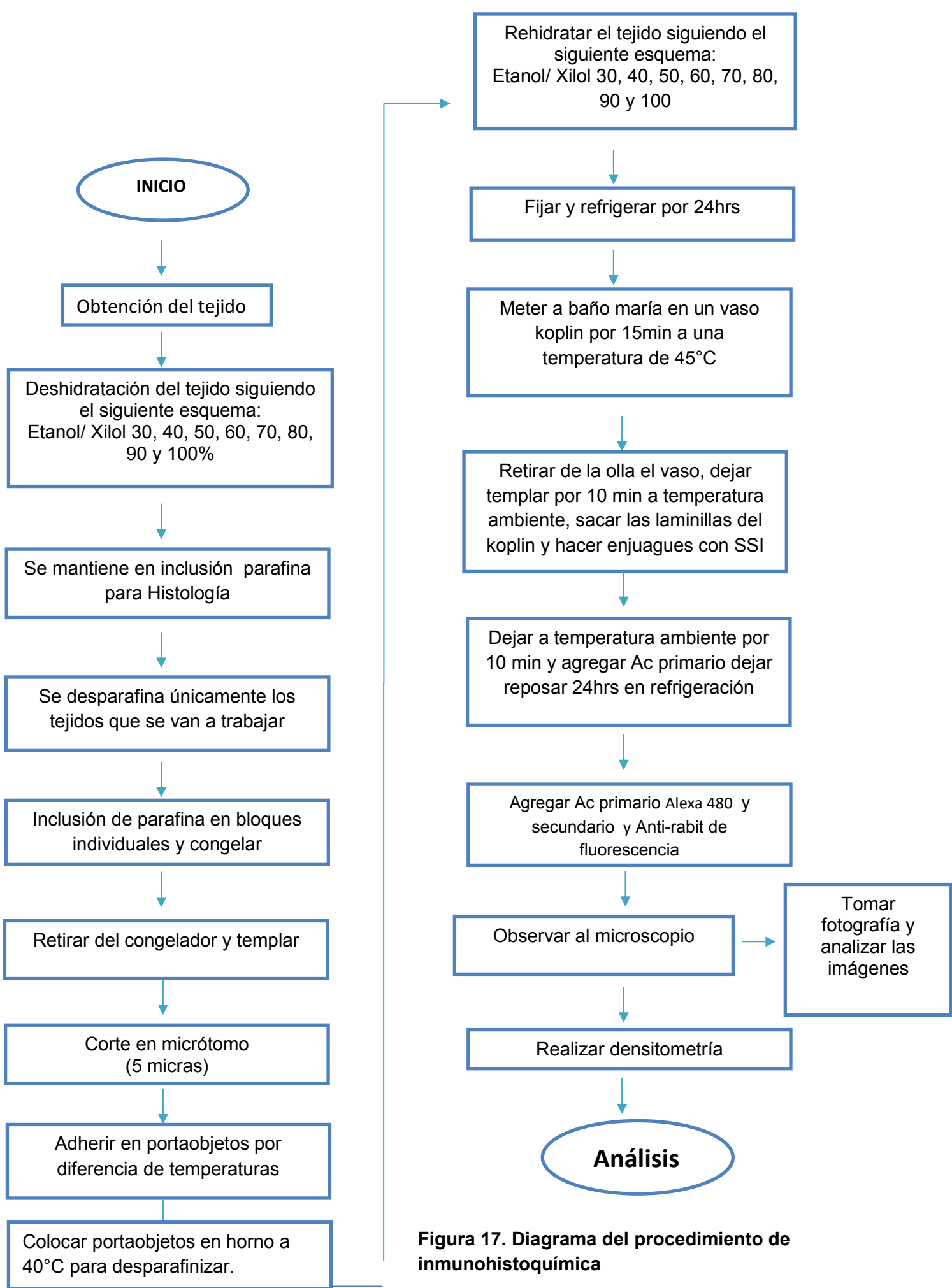


Figura 17. Diagrama del procedimiento de inmunohistoquímica

7. RESULTADOS

En Figura (18) se muestra un ejemplo de un estómago de rata fijado con formaldehído al 10 % obtenido en la experimentación.

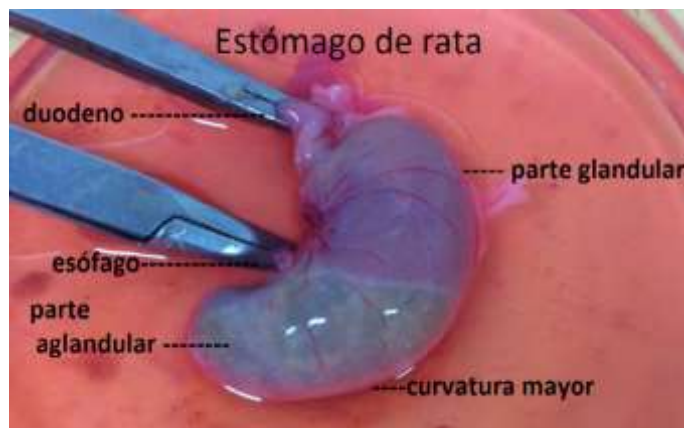


Figura 18. Estómago de rata fijado con formaldehído.

7.1. Efecto regenerador (Modelo E/T)

7.1.2. Áreas de lesión (E/T)

En la Figura (19). se muestran las áreas de las lesiones observando el efecto regenerador (E/T) de los extractos acuosos de *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum* Risso [10 mg/mL]. Se observa disminución de las áreas en ambos extractos comparados con el control positivo (Etanol: EtOH), no así para los grupos tratados con Ranitidina y Famotidina en donde el área de lesión fueron mayores, en relación al Omeprazol y Pantoprazol las áreas fueron similares a las obtenidas con el EtOH, a pesar de estas tendencias las diferencias encontrada fueron con respecto al grupo administrado con ácido cítrico y el extracto de *Citrus limonum* Risso (ANADEVA de una vía, *post-hoc* Dunnett's; diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$ con respecto a su control positivo etanol (EtOH), $F_{19,0.007} = 3.6804$, $P < 0.05$).

Figura 19. Grafica de área de lesión (mm²) en estómagos de rata Vs. Tratamiento, modelo (E/T)

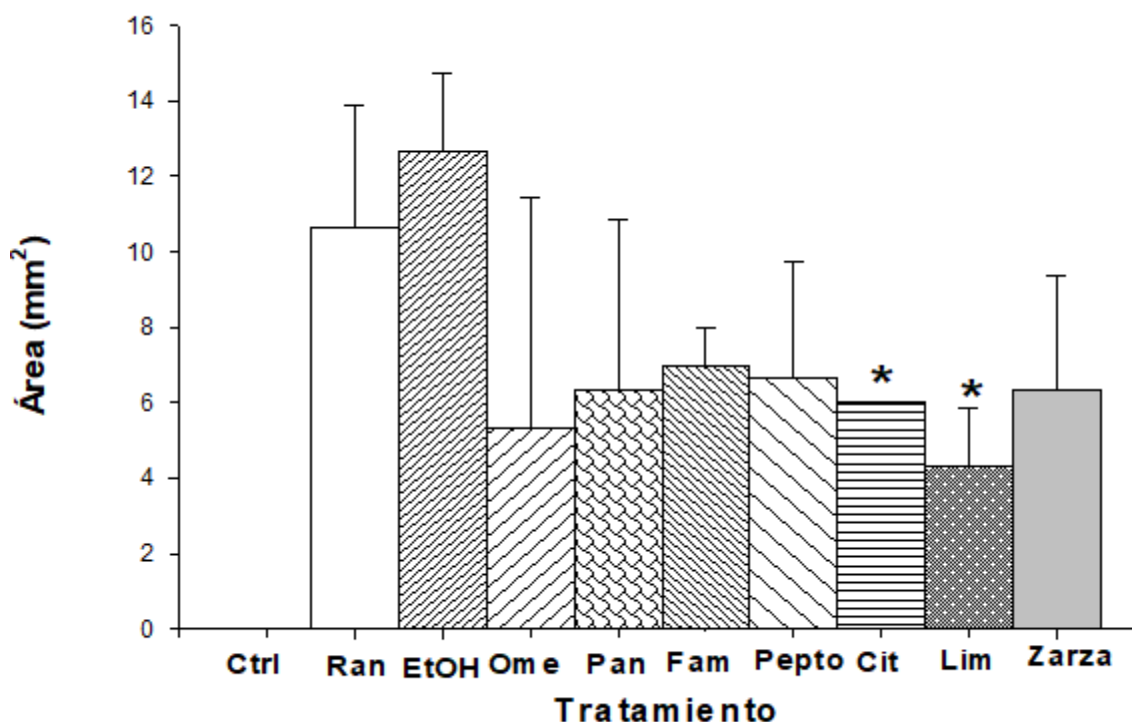


Figura 19. Área de lesión (mm²) en estómagos de rata Vs. Tratamiento, modelo (E/T). Cada barra representa el promedio del Área de lesión (mm²) \pm D.E. Donde Ctrl: control, Ran: Ranitidina, Fam: Famotidina, Ome: Omeprazol, Pan: Pantoprazol, EtOH: Etanol, Pepto: Subsalicilato de bismuto, Cit: ácido cítrico, Lim: extracto acuoso de *Citrus limonum* Risso y Zarza: extracto acuoso de *Rubus fruticosus*. * diferencias significativas a $p < 0.05$ Vs. EtOH.

7.1.3. Número de lesiones (E/T)

En la Figura (20), se muestra el número de lesiones con respecto a los grupos evaluados, en donde se observa que para los grupos que fueron administrados con Ranitidina, Famotidina, Omeprazol y Pantoprazol el número de lesiones fue similar al control positivo (EtOH) y con respecto a los grupos administrados con el extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum* Risso [10 mg/mL], ácido cítrico y subsalicilato de bismuto el número de lesiones disminuyeron significativamente (ANADEVA de una vía, post-hoc Dunnett's; diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$ con respecto a su control positivo etanol (EtOH), $H_{19,0.007}=18.017$, $P < 0.035$).

Figura 20. Grafica número de lesiones en función del tratamiento, modelo (E/T)

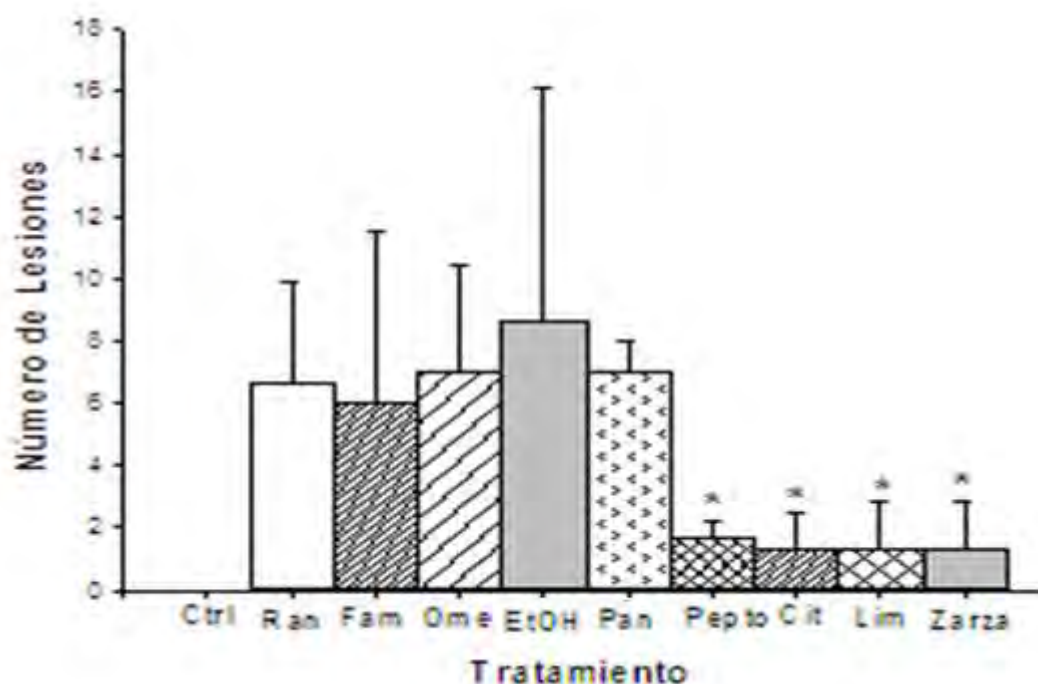


Figura 20. Número de lesiones en función del tratamiento, modelo (E/T). Cada barra representa el número de lesiones \pm D.E., en donde Ctrl: control, Ran: Ranitidina, Fam: Famotidina, Ome: Omeprazol, Pan: Pantoprazol, EtOH: Etanol, Pepto: Subsalicilato de bismuto, Cit: ácido cítrico, Lim: extracto acuoso de *Citrus limonum* Risso y Zarza: extracto acuoso de *Rubus fruticosus*. * diferencias significativas a $p < 0.05$ Vs. EtOH.

7.2. Efecto gastroprotector, (Modelo T/E)

7.2.1. Áreas de lesión (T/E)

En la Figura 21, se muestran las áreas de lesión en función de los tratamientos, en donde se observa que todos los grupos tuvieron una menor área de lesión al ser comparados con el grupo control (EtOH), sin embargo para los grupos administrados con Ranitidina, Famotidina, Omeprazol y Pantoprazol el área fue similar, pero mayor a los grupos administrados con ácido cítrico, subsalicilato de bismuto, extracto de *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum* Risso [10 mg/mL], encontrándose diferencias significativas en estos grupos con respecto al grupo control ya que el promedio del área de lesiones (mm^2) fue < 0.5 , (ANADEVA de una vía, post-hoc Dunnett's; diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$ con respecto a su control positivo etanol (EtOH), $H_{19,0.007} = 21.898$, $P < 0.009$).

Figura 21. Área de lesión (mm²) en estómagos de rata Vs. Tratamiento, modelo (T/E)

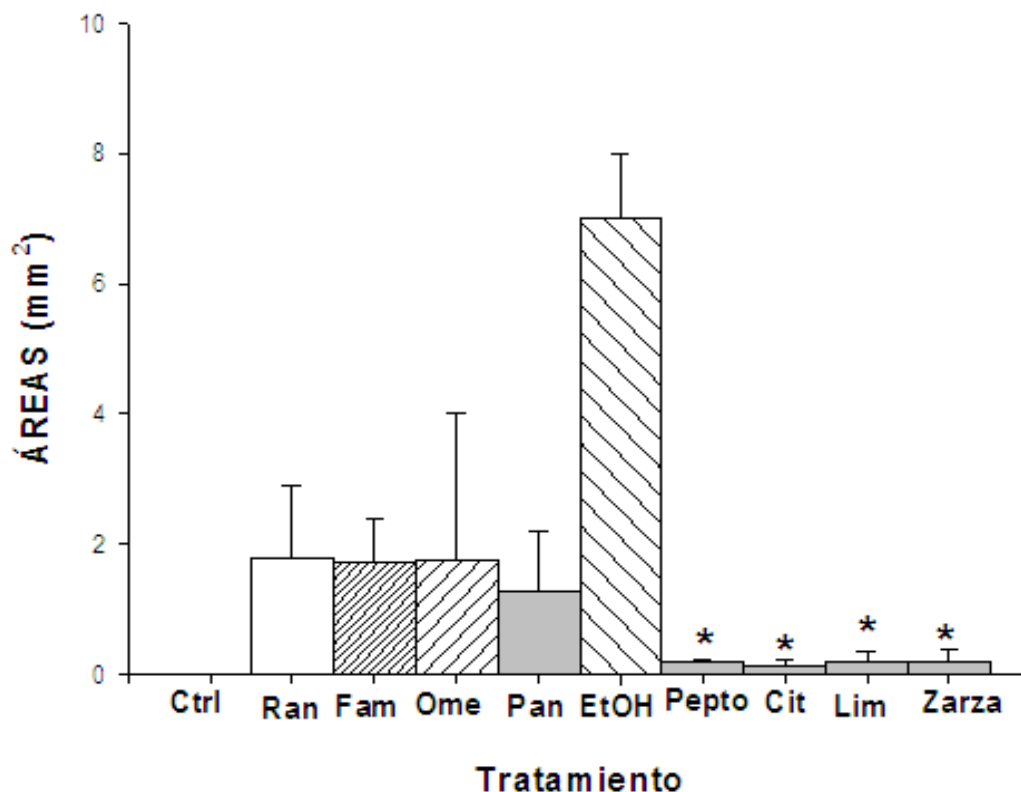


Figura 21. Área de lesión (mm²) en estómagos de rata Vs. Tratamiento, modelo (T/E).

Cada barra representa el promedio del Área de lesión (mm²) \pm D.E. Donde Ctrl: control, Ran: Ranitidina, Fam: Famotidina, Ome: Omeprazol, Pan: Pantoprazol, EtOH: Etanol, Pepto: Subsalicilato de bismuto, Cit: ácido cítrico, Lim: extracto acuoso de Citrus limonum Risso y Zarza: extracto acuoso de Rubus fruticosus.* diferencias significativas a $p < 0.05$ Vs. EtOHfructicosus.* diferencias significativas a $p < 0.05$ Vs. EtOH.

7.2.2. Número de lesiones, en el modelo (T/E)

En la Figura 22, donde se muestra el número de lesiones en función del grupo administrado en el modelo (T/E) para determinar el efecto gastroprotector, se muestra que el número de lesiones en los grupos administrados con Ranitidina, Famotidina, Omeprazol y Pantoprazol fueron similares al número de lesiones al grupo control (EtOH) y con respecto a los grupos administrados con ácido cítrico, subsalicilato de bismuto y los extractos acuosos de *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum Risso* [10 mg/mL] el número de lesiones fue menor (2 lesiones) en relación al control cuyo promedio fue de aproximadamente 6 lesiones, siendo diferentes estadísticamente significativos (Anadeva de una vía, post-hoc Dunnett's; a $p < 0.05$ con respecto a su control positivo etanol (ETOH), $H_{19,0.05}=13.074$, $P < 0.0159$).

Figura 22. Número de lesiones en función del tratamiento (T/E)

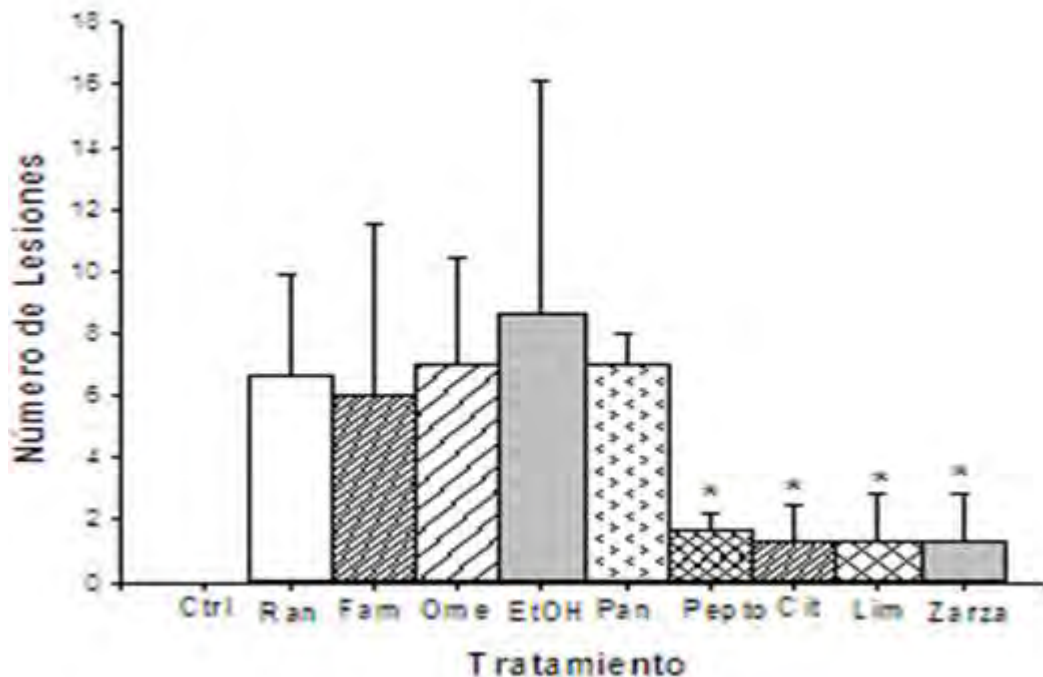





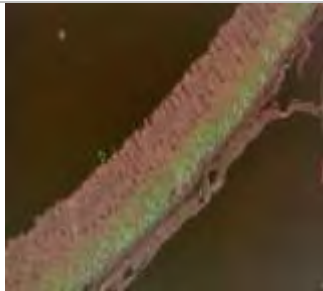
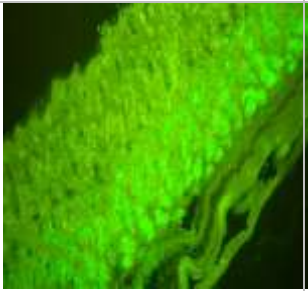
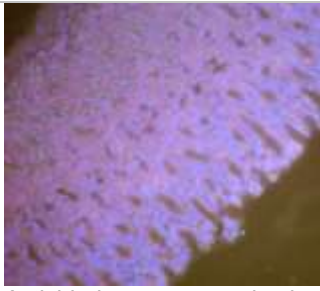



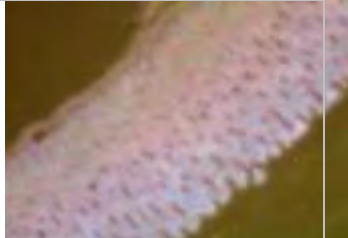



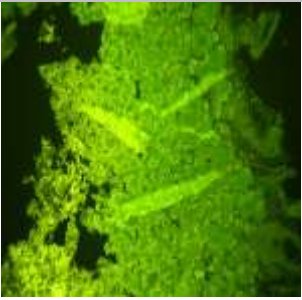

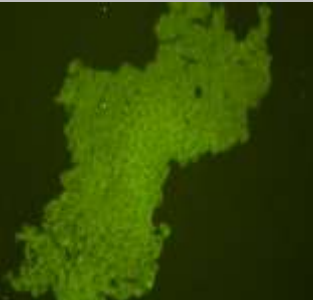

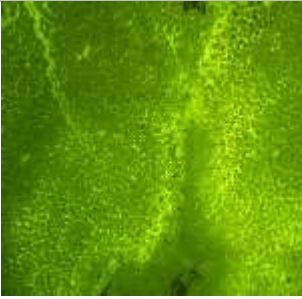
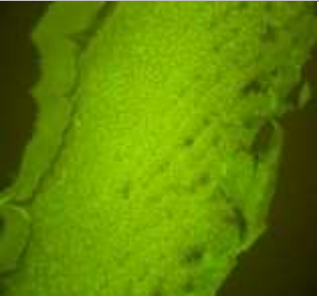
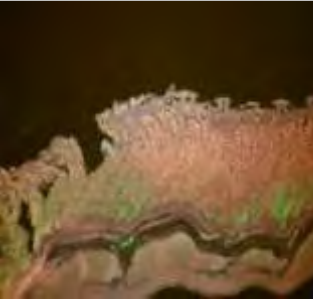


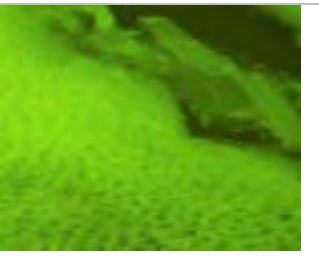
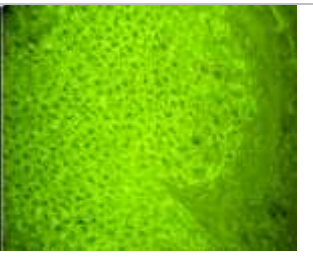
Figura 22. Número de lesiones en función del tratamiento, modelo (T/E). Cada barra representa el número de lesiones \pm D.E., en donde Ctrl: control, Ran: Ranitidina, Fam: Famotidina, Ome: Omeprazol, Pan: Pantoprazol, EtOH: Etanol, Pepto: Subsalicilato de bismuto, Cit: ácido cítrico, Lim: extracto acuoso de *Citrus limonum* Risso y Zarza: extracto acuoso de *Rubus fruticosus*. * diferencias significativas a $p < 0.05$ Vs. EtOH.

7.3. Descripción macroscópica y microscópica del efecto regenerativo (E/T) de los estómagos de rata

En el Cuadro (8), se muestra la descripción macro y microscópica de los estómagos de rata en función del tratamiento administrado, en el modelo para determinar el efecto regenerador (E/T,) en donde se muestra la diferencia entre el grupo de control negativo, el cual no fue sometido a ningún tratamiento ni administración de EtOH previo y el grupo control positivo (EtOH) con respecto a los demás grupos, donde se puede apreciar la disminución del número de lesiones en los grupos que fueron administrados con los extractos acuosos de *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum* Risso [10 mg/mL], subsalicilato de bismuto y ácido cítrico en comparación con los administrados con Famotidina, Ranitidina, Omeprazol y Pantoprazol. Así mismo se describe el efecto en las proteínas evaluadas TNF- α , IL-1 β Y COX-2.

Cuadro 8. Evaluación macro y microscópica en estómagos de rata, en el modelo (E/T).






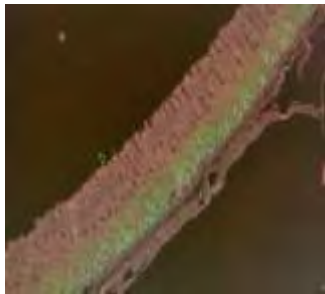
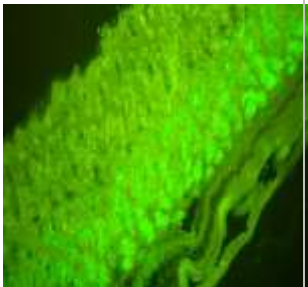
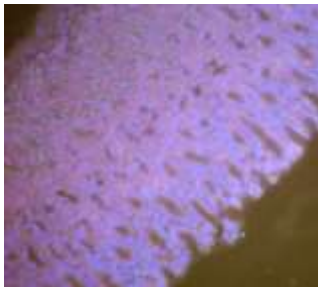

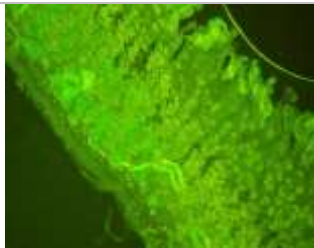
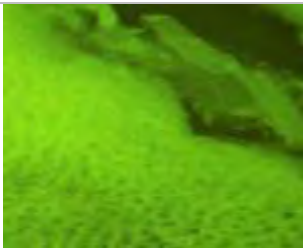
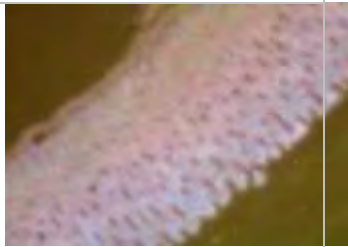
TRATAMIENTO	Estómago de rata	IL-1 β	COX-2	TNF- α
	Lesión	Lesión	Lesión	Lesión
	MACRO	MICRO	MICRO	MICRO
Blanco	 <p>Estómago de rata con corte en línea media mostrando la mucosa, sin ningún tratamiento. El estómago se observa en perfectas condiciones, con aparentes lesiones mínimas ocasionadas por jugos gástricos y ayuno.</p>	 <p>Se observa actividad mínima y normal de IL-1β debido al ayuno de 24h de la rata. Ya que se generan procesos de irritación por los ácidos gástricos del ayuno.</p>	 <p>Sin actividad relevante prácticamente nula, debido a que no hay un proceso de inflamación.</p>	 <p>No hay un proceso de anti-inflamatorio relevante.</p>
EtOH	 <p>La mucosa gástrica presenta hemorragias con zonas ulceradas no cuantificables, causadas por el efecto del etanol.</p>	 <p>En esta imagen de contraste, se puede observar, un área extensa de presencia de fluorescencia, lo que indica aumento de la actividad y de IL-1β por las lesiones producidas por el etanol.</p>	 <p>Actividad alta de COX-2. La fluorescencia es altamente significativa debido a un proceso inflamatorio severo.</p>	 <p>Actividad escasa a nula de TNF-α. Sin fluorescencia relevante debido a que no hay proceso antiinflamatorio.</p>
EtOH + Pep	 <p>Estómago con lesiones verticales en la mucosa, cuantificables en un promedio de 1.5cm de longitud.</p>	 <p>Alta actividad de IL-1β. Indica un deficiente efecto cicatrizante.</p>	 <p>Se observa alta actividad de COX-2 provocada por las úlceras.</p>	 <p>Actividad escasa de TNF-α, no hay proceso antiinflamatorio.</p>

TRATAMIENTO	Estómago de rata	IL-1 β	COX-2	TNF- α
	Lesión	Lesión	Lesión	Lesión
	MACRO	MICRO	MICRO	MICRO
EtOH + Ran	 <p>El estómago se observa con lesiones severas, sin efecto cicatrizante por parte de la Ranitidina.</p>	 <p>Se observa actividad importante de IL-1β lo que confirma las lesiones causadas por etanol, sin efecto regenerador por parte de la Ranitidina.</p>	 <p>Alta actividad de COX-2, debido a la ulceración, con nula regeneración en el proceso de inflamación por parte de la Ranitidina.</p>	 <p>Se observa escasa actividad de TNF-α por proceso de antiinflamación.</p>
EtOH + Zar	 <p>Se observa una alta regeneración de la mucosa, ya que no presenta lesiones severas a causa de los efectos del etanol.</p>	 <p>Se observa actividad de IL-1β, debido a las lesiones que causó el etanol.</p>	 <p>Gracias al efecto regenerador de la zarzamora, se observa poca actividad de COX-2. Evitando un proceso inflamatorio severo.</p>	 <p>Se observa alta actividad de TNF-α adecuada al número de lesiones regeneradas <i>(Se elige imagen de contraste para resaltar la fluorescencia).</i></p>
EtOH + Lim	 <p>Se observa un estómago con lesiones superficiales y escasas en la mucosa gástrica, gracias al efecto regenerador.</p>	 <p>Actividad limitada, insuficiente fluorescencia que nos indica escasez de lesiones.</p>	 <p>Se observa actividad superficial de COX-2 provocada por las lesiones.</p>	 <p>Actividad elevada de TNF-α que interviene en proceso de coagulación provocando una alta regeneración del estómago.</p>








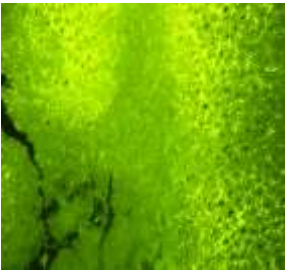


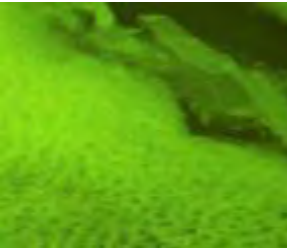
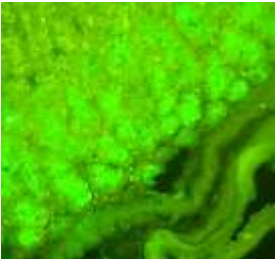
7.3.1 Descripción macroscópica y microscópica del efecto gastroprotector (T/E) de los estómagos de rata

En el Cuadro (9) se muestra la descripción macro y microscópica de los estómagos de rata en función del tratamiento administrado, en el modelo para determinar el efecto gastroprotector (T/E) en donde se muestra el efecto protector en donde hubo disminución del número de lesiones para los grupos administrados con *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum* Risso [10 mg/mL], subsalicilato de bismuto y ácido cítrico, en el caso de los grupos administrados con Famotidina, Ranitidina, Omeprazol y Pantoprazol no se aprecia la disminución del número de lesiones y es muy parecida la respuesta a la presentada con el grupo control positivo (EtOH), así mismo se presenta el efecto de las proteínas evaluadas TNF- α , IL-1 β y COX-2, donde se observa la relación de cada una de estas con respecto al efecto protector.

Cuadro 9. Evaluación macro y microscópica en estómagos de rata, en el modelo (T/E).

TRATAMIENTO	Estómago de rata	IL-1 β	COX-2	TNF- α
	Lesión	Lesión	Lesión	Lesión
	MACRO	MICRO	MICRO	MICRO
Blanco	 <p>Estómago de rata con corte en línea media mostrando la mucosa, sin ningún tratamiento. El estómago se observa en perfectas condiciones, con aparentes lesiones mínimas ocasionadas por jugos gástricos y ayuno.</p>	 <p>Se observa actividad mínima y normal de IL-1β debido al ayuno de 24h de la rata. Ya que se generan procesos de irritación por los ácidos gástricos del ayuno.</p>	 <p>Sin actividad relevante prácticamente nula, debido a que no hay un proceso de inflamación.</p>	 <p>No hay un proceso de anti-inflamatorio relevante.</p>
EtOH	 <p>La mucosa gástrica presenta hemorragias con zonas ulceradas no cuantificables, causadas por el efecto del etanol.</p>	 <p>En esta imagen de contraste, se puede observar, un área extensa de presencia de fluorescencia, lo que indica aumento de la actividad y de IL-1β por las lesiones producidas por el etanol.</p>	 <p>Actividad alta de COX-2 La fluorescencia es altamente significativa debido a un proceso inflamatorio severo.</p>	 <p>Actividad escasa a nula de TNF-α sin fluorescencia debido a que no hay proceso antiinflamatorio.</p>
Pep + EtOH	 <p>Estómago con lesiones verticales en la mucosa, cuantificables en un promedio de 1.5cm de longitud.</p>	 <p>Escasa actividad de IL-1β lo que nos habla de un deficiente efecto protector.</p>	 <p>Se observa mediana actividad de COX-2 provocada por las úlceras.</p>	 <p>Actividad escasa de TNF-α no hay proceso de coagulación</p>

TRATAMIENTO	Estómago de rata	IL-1 β	COX-2	TNF- α
	Lesión	Lesión	Lesión	Lesión
	MACRO	MICRO	MICRO	MICRO

<p>Ran + EtOH</p>	 <p>El estómago se observa con lesiones severas, sin efecto protector por parte de la Ranitidina.</p>	 <p>Se observa actividad importante de IL-1β lo que confirma las lesiones causadas por etanol, sin efecto protector por parte de la Ranitidina.</p>	 <p>Alta actividad de COX-2 debido a la ulceración, con nula protección por parte de la Ranitidina.</p>	 <p>Se observa escasa actividad de TNF-α por proceso de antiinflamación.</p>
<p>Zar + EtOH</p>	 <p>Se observa una alta protección de la mucosa, ya que no presenta lesiones severas a causa de los efectos del etanol.</p>	 <p>Se observa nula actividad de IL-1β, debido al buen efecto protector de la zarzamora. <i>(Se elige imagen de contraste para resaltar la nula fluorescencia).</i></p>	 <p>Baja actividad de COX-2. Debido a que no hay una lesión severa.</p>	 <p>Alta actividad regenerativa TNF-α. Por esta situación el estómago se encuentra prácticamente libre de lesiones</p>
<p>Lim + EtOH</p>	 <p>Se observa un estómago con lesiones superficiales y escasas en la mucosa gástrica.</p>	 <p>Actividad limitada, poca fluorescencia que nos indica escasez de lesiones.</p>	 <p>Se observa mediana actividad de COX-2 provocada por las úlceras.</p>	 <p>Alta concentración de TNF-α por proceso antiinflamatorio.</p>

7.4. Resultados de densidad óptica en el modelo para determinar el efecto de cicatrización (E/T) de las proteínas IL-1 β TNF- α , y COX-2

7.4.1. Resultados con IL-1 β

En la Figura 23, se muestra la actividad de IL-1 β en relación al tratamiento administrado el efecto cicatrizante del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum* Risso [10 mg/mL], se observa que hay una mayor concentración de IL-1 β en el tratamiento con limón con respecto al de zarzamora. Se llevó a cabo un análisis estadístico ANADEVIA de una vía, post-hoc Dunnett's; diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$ con respecto a su control positivo etanol (EtOH), $H_{19, 0.007} = 13.074$, $P < 0.159$. Donde (Ctri) es Cítrico, (Ran) Ranitidina, (Fam) Famotidina, (Ome) Omeprazol, (Pan) Pantoprazol, (EtOH) Etanol, (Lim) Limón *Citrus limonum* Risso, (Zarza) Zarzamora *Rubus fruticosus*.

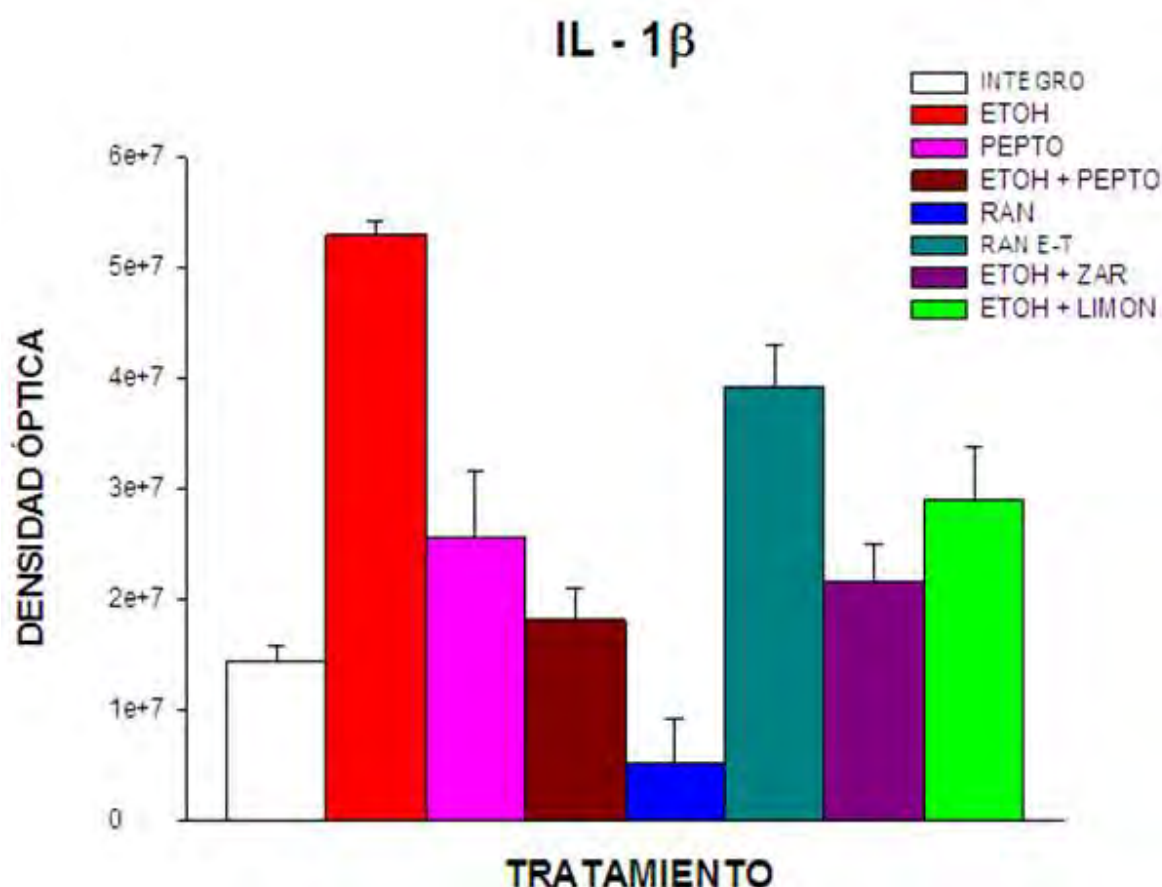


Figura 23. Densidad óptica de IL-1 β en función del tratamiento, modelo (E/T). Cada barra representa el promedio de Densidad óptica \pm D.E., en donde Ran: Ranitidina, EtOH: Etanol, Pepto: Subsalicilato de bismuto, Lim: extracto acuoso de *Citrus limonum* Risso y Zarza: extracto acuoso de *Rubus fruticosus*. * diferencias significativas a $p < 0.05$ Vs. EtOH.

7.4.2 Resultados con COX-2

En la Figura 24. Con respecto a la actividad la actividad de COX-2 en el efecto cicatrizante del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum* Risso [10 mg/mL], se observa que la actividad es muy similar para ambos tratamientos. Se llevó a cabo un análisis estadístico ANADEVIA de una vía, post-hoc Dunnett's; diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$ con respecto a su control positivo etanol (EtOH), $H_{19}, 0.007 = 13.074$, $P < 0.159$. Donde (Ctri) es Cítrico, (Ran) Ranitidina, (Fam) Famotidina, (Ome) Omeprazol, (Pan) Pantoprazol, (EtOH) Etanol, (Lim) Limón *Citrus limonum* Risso, (Zarza) Zarzamora *Rubus fruticosus*.

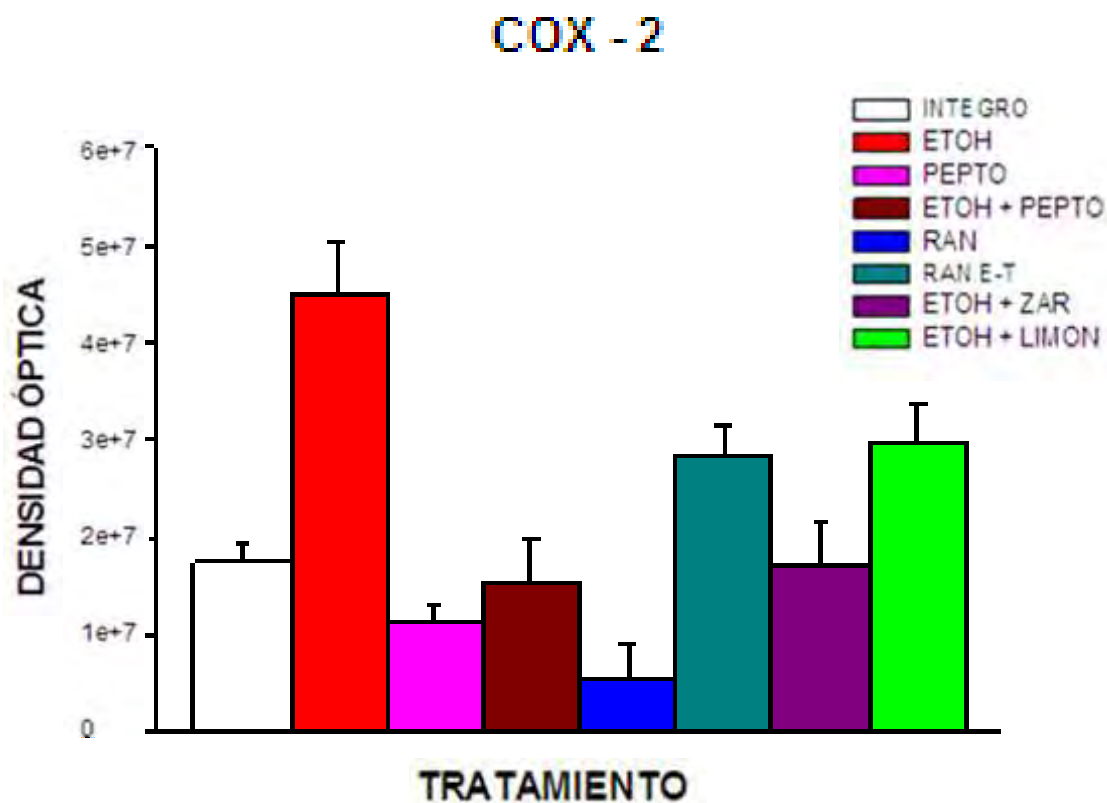


Figura 24. Densidad óptica de COX-2 en función del tratamiento, modelo (E/T). Cada barra representa el promedio de Densidad óptica \pm D.E., en donde Ran: Ranitidina, EtOH: Etanol, Pepto: Subsalicilato de bismuto, Lim: extracto acuoso de *Citrus limonum* Risso y Zarza: extracto acuoso de *Rubus fruticosus*. * diferencias significativas a $p < 0.05$ Vs. EtOH.

7.4.3 Resultados con TNF- α

En la Figura 25. Con respecto a la actividad de TNF- α en el efecto cicatrizante del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum* Risso [10 mg/mL], se observa una actividad significativamente más elevada para el caso del tratamiento con limón en comparación con el tratamiento de zarzamora. Se llevó a cabo un análisis estadístico ANADEVIA de una vía, post-hoc Dunnett's; diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$ con respecto a su control positivo etanol (EtOH), $H_{19}, 0.007 = 13.074, P < 0.159$. Donde (Ctri) es Cítrico, (Ran) Ranitidina, (Fam) Famotidina, (Ome) Omeprazol, (Pan) Pantoprazol, (EtOH) Etanol, (Lim) Limón *Citrus limonum* Risso, (Zarza) Zarzamora *Rubus fruticosus*.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se observa la distinta actividad en base a la concentración de IL-1 β que tuvo según el tratamiento.

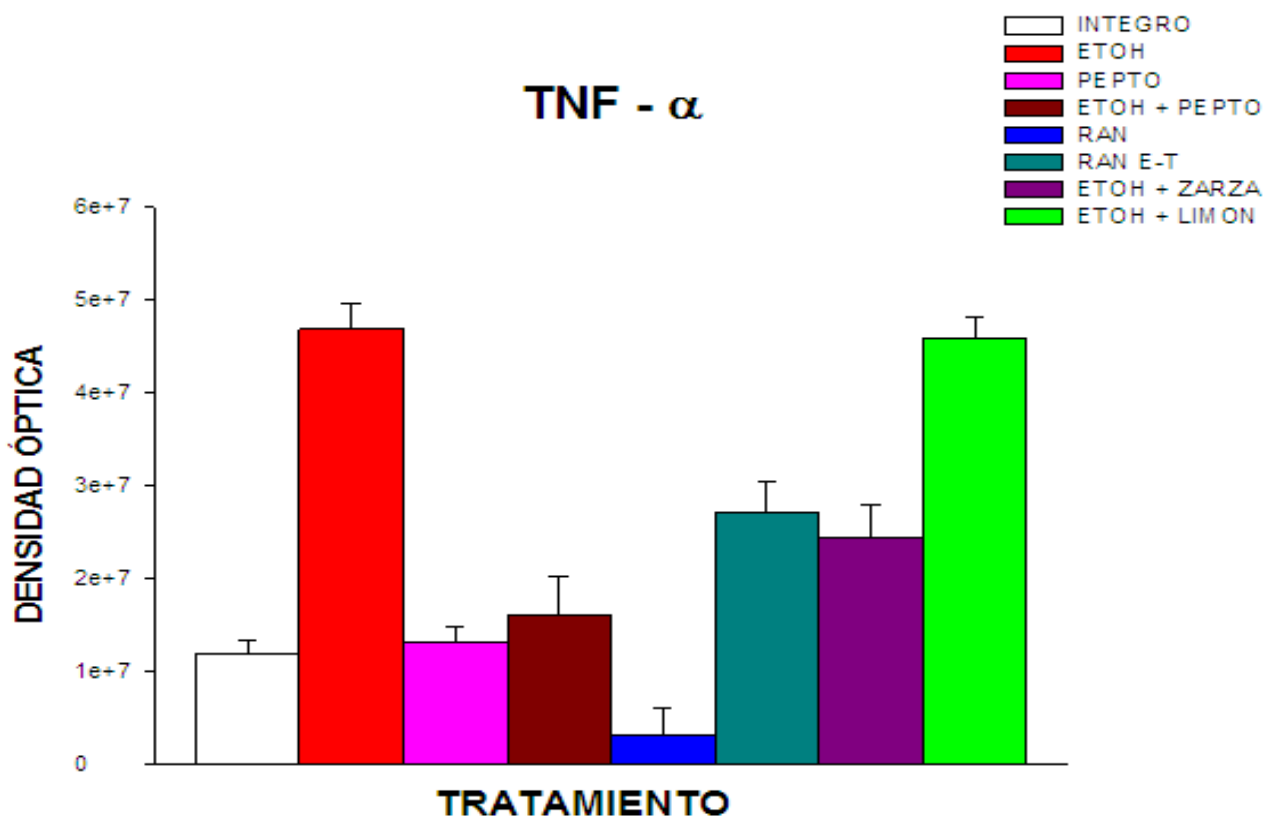


Figura 25. Densidad óptica de TNF- α en función del tratamiento, modelo (E/T). Cada barra representa el promedio de Densidad óptica \pm D.E., en donde Ran: Ranitidina, EtOH: Etanol, Pepto: Subsalicilato de bismuto, Lim: extracto acuoso de *Citrus limonum* Risso y Zarza: extracto acuoso de *Rubus fruticosus*. * diferencias significativas a $p < 0.05$ Vs. EtOH.

7.5. Resultados de densidad óptica en el modelo para determinar el efecto gastroprotector (T/E) de las proteínas IL-1 β TNF- α , y COX-2

7.5.1 Resultados con IL-1 β

En la Figura 26, Con respecto a la actividad de IL-1 β en el efecto protector del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum* Risso [10 mg/mL], se observa una mayor concentración (actividad) con el tratamiento de zarzamora con respecto al íntegro y al tratamiento con limón. Se llevó a cabo un análisis estadístico ANADEVIA de una vía, post-hoc Dunnett's; diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$ con respecto a su control positivo etanol (ETOH), $H_{19, 0.007} = 13.074$, $P < 0.159$. Donde (Ctri) es Cítrico, (Ran) Ranitidina, (Fam) Famotidina, (Ome) Omeprazol, (Pan) Pantoprazol, (EtOH) Etanol, (Lim) Limón *Citrus limonum* Risso, (Zarza) Zarzamora *Rubus fruticosus*.

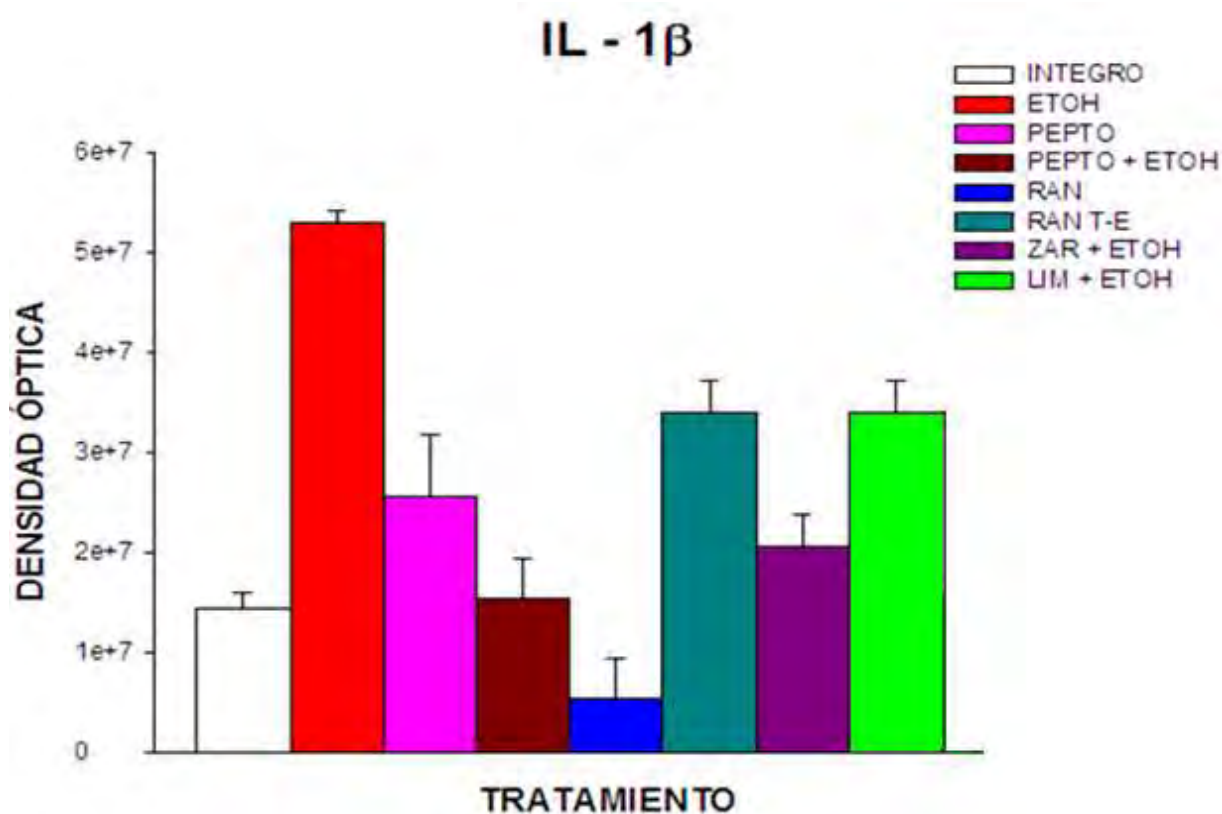


Figura 26. Densidad óptica de IL-1 β en función del tratamiento, modelo (T/E). Cada barra representa el promedio de Densidad óptica \pm D.E., en donde Ran: Ranitidina, EtOH: Etanol, Pepto: Subsalicilato de bismuto, Lim: extracto acuoso de *Citrus limonum* Risso y Zarza: extracto acuoso de *Rubus fruticosus*. * diferencias significativas a $p < 0.05$ Vs. EtOH.

7.5.2 Resultados con COX-2

En la Figura 27. Con respecto a la actividad de Cox-2 del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum* Risso [10 mg/mL], se observa que hay una mayor concentración (actividad) con el tratamiento con limón, con respecto al íntegro y a la Ranitidina. Se llevó a cabo un análisis estadístico ANADEVa de una vía, post-hoc Dunnett's; diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$ con respecto a su control positivo etanol (EtOH), $H_{19, 0.007} = 13.074$, $P < 0.159$. Donde (Ctri) es Cítrico, (Ran) Ranitidina, (Fam) Famotidina, (Ome) Omeprazol, (Pan) Pantoprazol, (EtOH) Etanol, (Lim) Limón *Citrus limonum* Risso, (Zarza) Zarzamora *Rubus fruticosus*.

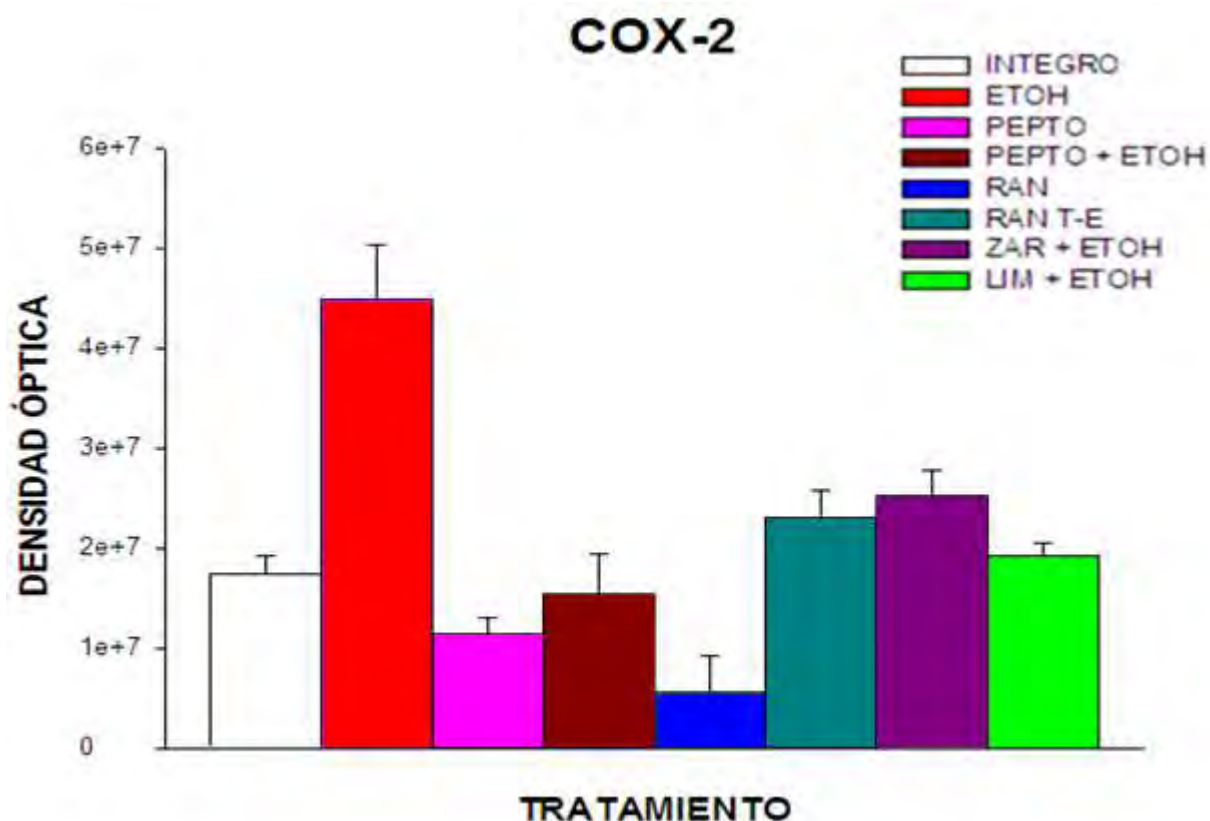


Figura 27. Densidad óptica de COX-2 en función del tratamiento, modelo (T/E). Cada barra representa el promedio de Densidad óptica \pm D.E., en donde Ran: Ranitidina, EtOH: Etanol, Pepto: Subsalicilato de bismuto, Lim: extracto acuoso de *Citrus limonum* Risso y Zarza: extracto acuoso de *Rubus fruticosus*. * diferencias significativas a $p < 0.05$ Vs. EtOH.

7.5.3 Resultados con TNF- α

En la Figura 28. Con respecto a la actividad de TNF- α en el efecto protector del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum* Risso [10 mg/mL], se observa una mayor actividad con respecto al tratamiento de la zarzamora en comparación con el tratamiento de limón. Se llevó a cabo un análisis estadístico ANADEVIA de una vía, post-hoc Dunnett's; diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$ con respecto a su control positivo etanol (ETOH), $H_{19, 0.007} = 13.074$, $P < 0.159$. Donde (Ctr) es Cítrico, (Ran) Ranitidina, (Fam) Famotidina, (Ome) Omeprazol, (Pan) Pantoprazol, (EtOH) Etanol, (Lim) Limón *Citrus limonum* Risso, (Zarza) Zarzamora *Rubus fruticosus*.

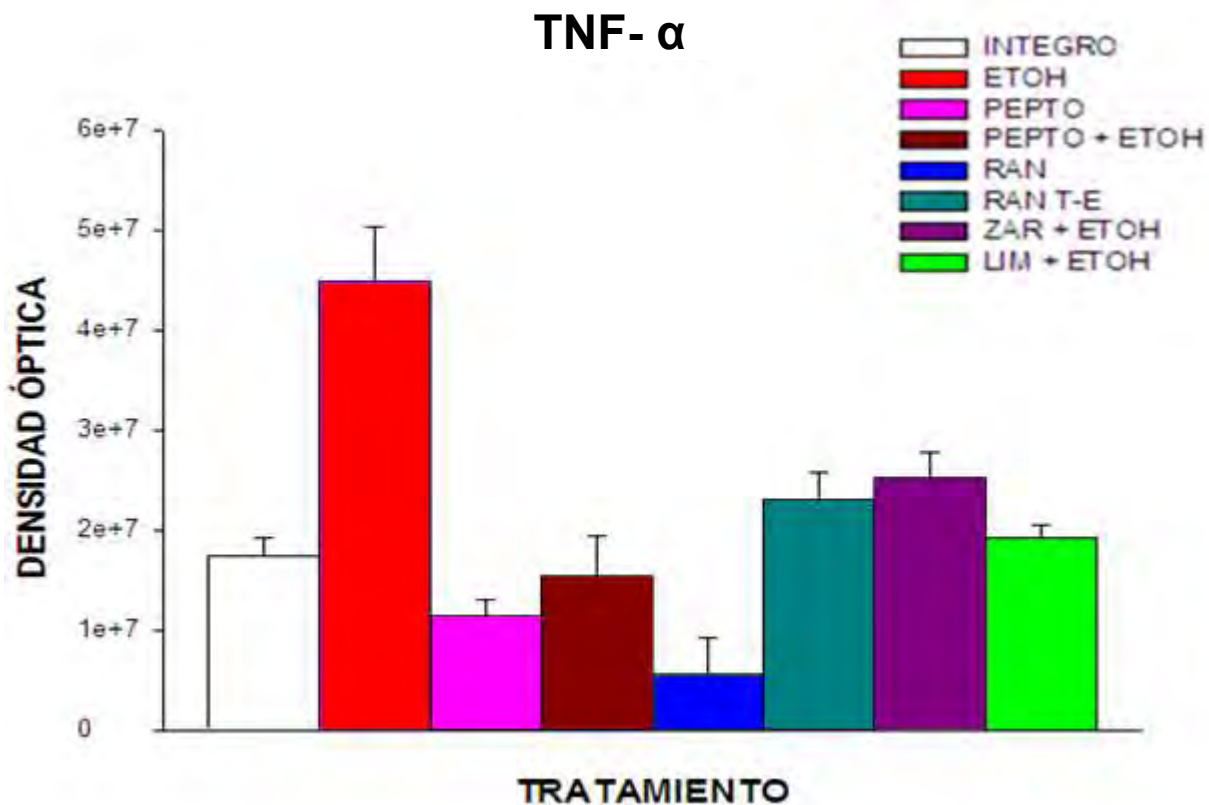


Figura 28. Densidad óptica de TNF- α en función del tratamiento, modelo (T/E). Cada barra representa el promedio de Densidad óptica \pm D.E., en donde Ran: Ranitidina, EtOH: Etanol, Pepto: Subsalicilato de bismuto, Lim: extracto acuoso de *Citrus limonum* Risso y Zarza: extracto acuoso de *Rubus fruticosus*. * diferencias significativas a $p < 0.05$ Vs. EtOH.

8. DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, observamos por medio de la técnica de densidad óptica que en todas las muestras de citosinas involucradas en procesos de inflamación y cicatrización IL-1B, COX-2 y TNF- α , fueron activadas en función de la unión entre el antígeno y el anticuerpo, en el cual los niveles de concentración de las citosinas son diferentes de acuerdo al tratamiento que recibió cada muestra. Existe un efecto tanto cicatrizante (estómago expuesto una hora a etanol, con posterior tratamiento con controles y extractos acuosos) y como protector (estómago con tratamiento con controles y extractos acuosos por media hora y posterior exposición al etanol por una hora) (William, 2004).

Se trató a un grupo de ratas con etanol para inducir gastritis, sin ningún tratamiento de controles o extractos, esto con la finalidad de conocer las lesiones que provoca el etanol a un estómago de rata y obtener los valores de concentración de IL-1B, COX-2 y TNF-a en un estómago enfermo y que nos sirva para comparar los resultados.

De manera macroscópica los daños son severos, con un número promedio por estómago de 8 lesiones, con área promedio de 8 mm por lesión.

Los densidad óptica nos muestran resultados donde IL-1B tiene un nivel de $5e7$, COX-2 y TNF-a de $4e7$, estos resultados sugieren que IL-1B tiene una gran actividad, mandando señales específicas al sistema inmune comenzando una reacción pro-inflamatoria, y sin ninguna inhibición, ya que no interactúa con ningún tratamiento para contrarrestar o parar su actividad, e iniciando la activación en cascada de COX-2 para expresar con su receptor COX- R e iniciar la inflamación, enrojecimiento, dolor y la formación de la ulceración, así como la producción de gastrina, y por ultimo activando a TNF- α con marcadores para los receptores de prostaglandina, que a su vez activan la regeneración de fibroblastos con enlaces covalentes irreversibles, para dar paso a la iniciación de la coagulación y cicatrización (Flores, 2002).

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) es una citosina que producen varias células del sistema inmune, principalmente macrófagos y monocitos (línea de defensa del sistema inmune contra agentes patógenos) y procesos antiinflamatorios. (López, 2013)

Los altos niveles de concentración de citosinas, nos muestran su actividad y su naturaleza y que se caracterizan por rompen con la homeostasis de un estómago sano, como es el caso del íntegro donde los niveles de IL-1 β , COX-2 y TNF- α oscilan entre 1e7 y 2e7 y esto es natural, porque estas citosinas no sólo están involucradas en procesos inflamatorios propios de la gastritis, sino que también tienen actividad en el sistema inmune innato (Flores, 2002).

La IL-1 β se encarga de iniciar la señalización de procesos inflamatorios, Cox-2 se encarga de interpretar las señales y expresar algunas de estas, TNF- α termina la expresión de algunas señales que inicio COX-2 como la coagulación y cicatrización y de iniciar algunas propias, es por esto que en general en este trabajo se presenta el efecto cicatrizante en niveles altos de IL-1 β y Cox-2 para confirmar que la inducción a gastritis fue exitosa y se comienza la cascada de señalización para la reparación de las lesiones (gastritis y úlceras) provocadas por el etanol; así mismo cuando observamos que TNF- α activo, nos indica que ha iniciado la etapa de coagulación y cicatrización disminuyendo las lesiones o evitando la formación de estas, según sea el caso (William, 2004).

Tanto en el caso de la evaluación del efecto cicatrizante, como el del efecto protector tenemos un control íntegro que le llamaremos control positivo A, el cual no se le administró ningún tratamiento, ni se sometió a la inducción de gastritis, de igual forma tenemos un control negativo que es el caso del grupo de las ratas, que estuvieron expuestas a etanol por aproximadamente una hora, para inducirles gastritis y sin recibir ningún tipo de tratamiento; estos dos son para comprobar de manera visual y por densitometría, un estómago sano contra un estómago que tiene gastritis (Muñoz, 2014).

En el estudio se utilizaron dos controles más, con los medicamentos más utilizados para los síntomas y alivio de la gastritis; y así poder comparar qué tan efectivo son los extractos acuosos de *Rubus fruticosus* y *Citrus limonum* Risso con respecto a los medicamentos tradicionales, en la evaluación de dichos efectos tanto protector como cicatrizante.

De acuerdo a los resultados obtenidos para los estómagos, a los cuales se les administro Pepto y Ranitidina correspondientemente, tanto en la evaluación cicatrizante como en la evaluación protectora, se convirtieron en nuestro tercer control comparativo, entre tratamientos alopáticos contra tratamientos extractos acuosos, al que llamaremos control P de (Pepto), y control R de (Ranitidina), ya que los niveles de IL-1 β y Cox-2 son arriba de 4e7 casi igual a nuestro control negativo, con un numero promedio de lesiones en el efecto cicatrizante de 12 en comparación con Pepto que fue de 6, con áreas de 4mm y 1mm promedio respectivamente (Salazar, 2006; Sánchez, 2008).

Reafirmando dichos resultados con la densidad óptica; al hablar del estómago expuesto a etanol por más de una hora y a pesar de recibir un tratamiento contra la gastritis, después de estar expuesta etanol, los resultados no son favorecedores, pues al expresarse las citosinas en tan altos niveles, nos dice que hay inflamación dolor y ulceración, sin progreso a las cicatrización, ya que TNF- α tienen niveles por debajo de 2e7, donde se observa una fuerte coloración roja que indica inflamación sin alcanzar una cicatrización efectiva, reduciendo o eliminando la gastritis (Domínguez, 2005).

Se elige la Ranitidina como nuestro control comparativo R, porque de acuerdo a los resultados obtenidos con Omeprazol, Pantoprazol y Famotidina; la Ranitidina es una media de la efectividad de los medicamentos utilizados contra la gastritis.

Caso contrario donde el Pepto, tienen niveles de 3e7 de IL-1B, COX -2, que nos están indicando que si hay una buena inducción la gastritis porque hay inflamación enrojecimiento ulceración etc. pero sin llegar a niveles de control negativo, donde nos habla de que está

evitando la formación severa de úlceras gástricas. (Juarez, 2015). TNF- alfa muestra niveles de $1e7$, muy similares al control íntegro, comprueba las imágenes y nos habla de una excelente cicatrización ya que esta activa y además los niveles son apropiados con respecto al número y la severidad de las lesiones. Por esta razón son los controles, que nos darán los parámetros para comprobar los extractos acuosos y su respectiva efectividad, para evaluar los efectos cicatrizantes y/o protector.

De acuerdo a los resultados del efecto cicatrizante, en el caso de íntegro donde no se administró ningún tratamiento, ni inducción a gastritis, se observa ligera señalización de IL- 1β , porque además esta citosina intervine en proceso de la respuesta inmune innata y por tal motivo siempre existe una cierta concentración de manera activa, manteniendo alerta el estado inmune del individuo. Se observan ligeras señales de COX-2 por qué al igual que la IL- 1β interviene en procesos inmunológicos importantes, pre- inflamatorios no sólo por agentes infecciosos o agentes químicos dañinos como el etanol, también por traumatismos, intervenciones quirúrgicas, ayuno prolongado etc. Cabe mencionar que nuestras ratas de estudio fueron sometidas a un ayuno mínimo de 24 horas (López, 2014).

En el caso de TNF- α se encuentra de baja a nula actividad ya que no hay lesiones ni gastrina que active sus funciones principales en la gastritis y lo poco que se encuentra activado, es por casos aislados de inmunidad propia de la rata, en donde interviene esta citosina (Domínguez, 2005).

Si se observa el caso de la rata con inducción a úlcera sin recibir ningún tipo de tratamiento la actividad de la IL- 1β , es muy evidente en las imágenes, lo cual el método de densidad óptica nos permite corroborar que alcanza niveles mayores a $5e7$ esto se debe porque es la primera citosina en mandar señalizaciones para que inicien los procesos inflamatorios, de hipersensibilidad y de dolor mostrándonos que hay un proceso efectivo de gastritis al igual que COX-2 que mantiene niveles de $4e7$ que fue activado por la IL- 1β , y cumple con

expresión de la inflamación gástrica y la estimulación para formar gastrina que más adelante estará activando a TNF- α (Flores, 2002).

Los niveles de TNF- α son un poco menores de $4e7$, indicando que su proceso aún estaba en la fase inicial de coagulación sin alcanzar la cicatrización, éstos resultados son porque la exposición al etanol es suficiente para causar lesiones severas y por si solo el sistema inmune de la rata, no puede regenerar dichas lesiones.

En el caso de la evaluación de la rata en el que se le administró etanol y después de una hora el extracto acuoso de zarzamora, para observar el efecto regenerador o cicatrizante, se observa un estómago casi limpio muy parecido al integro con un promedio de 5 lesiones por estómago con un área de 1mm; y de acuerdo a los resultados de densidad óptica, se obtuvieron niveles poco mayores a $1e7$ casi como el integro esto nos habla que la cascada de señalización de la IL-1 β para comenzar la inflamación, la sensibilidad y el dolor fue disminuido de manera eficiente (Hassimotto, 2008; Garzón, 2008).

Con respecto a COX-2, se encontró un nivel igual al que maneja nuestro control P de Pepto, menor a $2e7$ el cual nos da la pauta de una buena respuesta antiinflamatoria.

Obteniendo resultados concordantes, ya que el nivel de TNF- α es de $3e7$, y nos indica que está en excelente proceso de cicatrización, de acuerdo al número de lesiones y áreas de las mismas.

En el caso del estómago, el cual fue sometido a etanol y posterior tratamiento con extracto de limón, evaluando el efecto cicatrizante, de acuerdo los resultados de la densidad óptica:

La IL-1 β aún se ve con actividad en comparación con nuestro resultado del control íntegro sin llegar al control negativo, con un nivel de $3e7$ sugiriendo que existe una cascada de señalización activa, pro inflamatoria, de hipersensibilidad y dolor.

Al evaluar los niveles de COX-2 son de $3e7$ donde es visible la inflamación y el enrojecimiento, irritabilidad del tejido y la formación de 7 lesiones en promedio con un área

de 2mm. Es un buen cicatrizante, pero en comparación con zarzamora y Pepto es menos eficiente (Hassimotto, 2008; Garzón, 2008).

Al evaluar TNF- α se observa con actividad cicatrizante, los resultados de la evaluación del efecto protector son los siguientes:

En el caso de la zarzamora la observación macroscópica en el estómago de la rata se encontraron úlceras de un tamaño promedio de 7mm con un número de lesiones promedio mayor a 4. En los resultados de densidad óptica tenemos que los niveles de zarzamora en interleucina son $4e7$ indicándonos que el proceso de señalización estaba activo es decir estamos al inicio de la cascada pro inflamatoria de hipersensibilidad y por dolor con una activación directa a COX-2 (López, 2014).

COX-2 se encuentra en niveles medios de $3e7$ que nos sugiere que está iniciando la fase inflamatoria, pero ya está siendo inhibida por la zarzamora, por los bajos niveles que maneja. Pero son suficientes para tener una inflamación y enrojecimiento, que causa la ulceración y que estimula la gastrina dispuesta a activar por medio de la quimiotaxis, a TNF- α y comenzar el proceso de cicatrización y coagulación teniendo niveles de $2e7$.

Éstos niveles nos hablan de dos cosas, que se inició la cicatrización, y por los niveles bajos también es porque hay muy poca ulceración que cicatrizar, debido a que el daño que logro provocar el etanol es menor, porque tenía el extracto de zarzamora inhibiendo el proceso de gastritis (Garzón, 2008).

En el caso del estómago de la rata que fue tratada con extracto de limón y posterior inducción de úlcera gástrica, para evaluar el efecto protector obtuvimos un número de lesiones por debajo de 2 en promedio, con áreas menores a 4 mm en promedio y de acuerdo a los resultados obtenidos en la densidad óptica el efecto protector de limón es muy evidente, ya que los niveles de IL-1 β y COX-2 están en $2e7$, al tener niveles por debajo con respecto a las zarzamora nos habla de que la cascada de señalización pro inflamatoria de hipersensibilidad y de dolor que induce IL-1 β y COX-2 se ven afectadas, de manera

positiva, ya que existe poca inflamación, poca irritabilidad y casi nula formación de lesiones, y las lesiones existentes son muy superficiales (William, 2004)

TNF- α presenta niveles aún más bajos, alcanzando casi los niveles obtenidos en el íntegro de 1e7, nos habla de que el limón tiene una participación importante, ya que inhibe los efectos dañinos (gastritis) provocada por el etanol, ya que la actividad de las citosinas es escasa.

9. CONCLUSIONES

Para los fármacos empleados como controles comparativos (Ranitidina, Famotidina, Omeprazol, Pantoprazol y subsalicilato de bismuto) y control negativo (etanol), hubo alta reactividad para citocinas IL--1 β y COX-2, lo que nos indica que hay enrojecimiento, inflamación, en algunos casos ulceración, dolor por la alta concentración de COX-2 y escasa actividad a nula de TNF- α . Concluyendo que el efecto gastroprotector y regenerador de éstos fármaco es casi nulo.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se demuestra que *Citrus limonum* Risso y *Rubus fruticosus* son un tratamiento eficiente para la regeneración de tejido gastrointestinal.

El limón muestra mejores resultados para la protección de tejido gastrointestinal en comparación con los resultados de zarzamora.

10. REFERENCIAS

Álvarez Sánchez, A. y. (2007). *Trastornos motores del aparato digestivo*. Buenos Aires: Médica Panamericana.

Arenas, M. (2010). *Técnica histológica*.

Atlas de Histología Vegetal y Animal (en línea). (n.d.). www.mmegias.webs.uvigo.es.

Beales, J. C. (n.d.). *Cell biology. Interleukin 1 β and tumour necrosis factor α inhibit acid secretion in cultured rabbit parietal cells by multiple pathways*. http://www.medicalcellbiology/interleukin_f2.html.

Casco Rosero, J. P. (2011). *Evaluación de la actividad gastroprotectora del extracto crudo de papa (Solanum tuberosum) en úlcera de estómago inducida con etanol en ratas (Rattus norvegicus)*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, México : Facultad de ciencias .

Cordova Villalobos, J. Á. (2009). *Procedimientos endoscópicos en gastroenterología* . México: Médica Panamericana.

Domínguez, D. A. (2005). *Gastroenterología. Gastritis 2da Ed*. México: Mc Graw- Hill.

Dorantes, M. (2010). *Alometría tegumentaria de la rata cepa Wistar*. México: Libros electrónico.

Douglas, W. (1987). *Histamina y 5 hidroxitriptamina (serotonina) y sus antagonistas*.

Juarez, p. A. (2015). *Evaluación del efecto cicatrizante del extracto acuoso de la hoja de zarzamora (Rubus Fruticosus) en rata cepa Wistar y realización de Histopatología*. México, D.F: Facultad de QUÉuímica, UNAM.

Katzung. (2013). *Farmacología Básica y Clínica 12va Ed*. México: Mc - Graw Hill.

Kuwahara, R. (n.d.). *Chemical stomach (En línea)*. <http://www.emedicine.com>.

Latarjet, M. y. (2008). *Anatomía Humana, 4. Vol. 2*. Buenos Aires : Médica Panamericana.

línea, A. e. (2014). *Citoqueuinas*. http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=76575&id_seccion=1161&id_ejemplar=7616&id_revista=92.

López Lizarraga, M. (2013). *Fisiología médica*. Facultad de Medicina UAS.

López, V. M. (2014). *Evaluación del efecto gastroprotector del extracto acuoso de la hoja de zarzamora (Rubus fruticosus) de la CL50 mediante el bioensayo con Artemia Salina*. México, D.F: Facultad de QUÉuímica, UNAM.

Luis, R. (2008). *Tratamiento de las enfermedades digestivas*. Madrid: Médica Panamericana.

Marín, L. (2008). *The Journalis*. EC-JPR <http://perarduaadastra.eu/2008/10/etanol/>.

- Martínez Flores, S. (2002). *Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes*. España: Universidad de Leon. Departamento de Fisiología.
- Martínez, D. M. (2013). *Nuevos conceptos fisiológicos de la enfermedad ácido péptica*. Archivo medico de Camagûey.
- Narro, A. (2009). *Anatomía queuirúrgica del estómago y duodeno. Cirugía Digestiva*. F.Galileo.
- Naso, L. (2010). *Efectos antioxidantes del ácido clorogénico y su complejo con el catión Oxovanadio*. La Plata, Argentina: Facultad de Ciencias exactas.
- Navarro, A. (2009). *Anatomía queuirúrgica del estómago y duodeno. Cirugía Digestiva*. F. Galindo.
- Nelsbach, J. (2013). *Articulos en linea*. <http://vivirsinnicotina.es/curiosidades.html>.
- NOM-062-ZOO-1999, N. O. (n.d.). *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*.
- NOM-072-SSA1-2012, N. O. (n.d.). *Etiquetado de medicamentos y de remedios herbolarios*.
- Plantas medicinales. Plantas que curan* . (2013). <http://www.plantasquecuran.com/plantas-medicinales/zarzamora.html>.
- Pruetton, M. S. (1999). *Fundamentos de Físicoqueuímica* . México: Limusa.
- Quezada, A. (1997). *Introducción al manejo de animales de laboratorio; roedores y pequeñas especies*. México, Yucatan: Universidad Autonoma de Yucatan.
- QUEuroz, J. (2007). *Fenoles naturales*. Ecuador: Facultad de Ciencias QUEuimicas .
- Rachel, D. M. (2012). *Manual de Farmacognosia*. México, UNAM: Facultad de QUEuímica.
- Reyes Perez, R. (2006). *La Experiencia Panamericana en Plantas Medicinales*. Brasil: Organización Panamericana de la Salud.
- Risso, V. (2015). *Atlas digital de anatomía para el bioterio*. Universidad de Ciencias Veterinarias, FCV UBA.
- Rodriguez Palomo, D. (2010). *Actualización de la fisiología gástrica*. Costa Rica: Medicina Legal de Costa Rica.
- Royal Postgraduate Medical School, Hammersmith Hospital, Du Cane Road. Department of Gastroenterology*. (2012). London: <http://www.merckwebs.uvigo.es/gastroenterology/gastric.html>.
- Sánchez Garay, M. (2010). *Panorama epidemiológico de las úlceras, gástricas y duodenitis en México*. Secretaria de Salud.
- Sanchez, N. M. (2012). *Gastroenterología. Gastritis*. México: Mc Graw-Hill.

- Sistemas de Nutrición*. (2013). http://www.genomasur.com/BCH_libro/capitulo_12.htm.
- Soybel, D. (n.d.). *Anatomía y fisiología del estómago*. Clínicas Quirúrgicas de Norteamérica.
- Vanaclocha, B. (2006). *Fitoterapia. Vademecum de prescripción*. Barcelona: Masson.
- Waldman, S. (2010). *Farmacología terapéutica. Principios para la práctica*. México: El manual moderno.
- William, L. S. (2004). *Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix*. The International Journal of biochemistry & Cell Biology.
- Williams, L. S. (n.d.). *Tisse*.
- Witchyl, M. (2004). *Herbal drugs and phytopharmaceuticals*. California: Medpharm scientific publishers Stuttgart.
- Yamada, T. (2008). *Manual de Gastroenterología*. México: Mc Graw - Hill.
- (s.f.).
- Álvarez Sánchez, A. y. (2007). *Trastornos motores del aparato digestivo*. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Arenas, M. (2010). *Técnica histológica*.
- Atlas de Histología Vegetal y Animal (en línea)*. (s.f.). www.mmegias.webs.uvigo.es.
- Beales, J. C. (s.f.). *Cell biology. Interleukin 1 β and tumour necrosis factor α inhibit acid secretion in cultured rabbit parietal cells by multiple pathways*. http://www.medicalcellbiology/interleukin_f2.html.
- Casco Rosero, J. P. (2011). *Evaluación de la actividad gastroprotectora del extracto crudo de papa (Solanm tuberosum) en úlcera de estómago inducida con etanol en ratas (Rattus norvegicus)*. Escuela Superior Politecnica de Chimnorazo, México : Facultad de ciencias .
- Cordova Villalobos, J. Á. (2009). *Procedimientos endoscópicos en gastroenterología*. México: Médica Panamericana.
- Domínguez, D. A. (2005). *Gastroenterología. Gastritis 2da Ed*. México: Mc Graw- Hill.
- Dorantes, M. (2010). *Alometria tegumentaria de la rata cepa Wistar*. México: Libros electronico.
- Douglas, W. (1987). *Histamina y 5 hidroxitriptamina (serotonina) y sus antagonistas*.
- Juarez, p. A. (2015). *Evaluacion del efecto cicatrizante del extracto acuoso de la hoja de zarzamora (Rubus Fruticosus) en rata cepa Wistar y realizacion de Histopatologia*. México, D.F: Facultad de QUEuímica, UNAM.

- Katzung. (2013). *Farmacología Básica y Clínica 12va Ed.* México: Mc - Graw Hill.
- Kuwahara, R. (s.f.). *Chemical stomach (En línea)*. <http://www.emedicine.com>.
- Latarjet, M. y. (2008). *Anatomía Humana, 4. Vol. 2.* Buenos Aires : Médica Panamericana.
- linea, A. e. (2014). *Citoqueuinas*. http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=76575&id_seccion=1161&id_ejemplar=7616&id_revista=92.
- López Lizarraga, M. (2013). *Fisiología medica*. Facultad de Medicina UAS.
- López, V. M. (2014). *Evaluación del efecto gastroprotector del extracto acuoso de la hoja de zarzamora (Rubus fruticosus) de la CL50 mediante el bioensayo con Artemia Salina*. México, D.F: Facultad de QUeúímica, UNAM.
- Luis, R. (2008). *Tratamiento de las enfermedades digestivas*. Madrid: Medica Panamericana.
- Marín, L. (2008). *The Journalis*. EC-JPR <http://perarduaadastra.eu/2008/10/etanol/>.
- Martínez Flores, S. (2002). *Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes*. España: Universidad de Leon. Departamento de Fisiología.
- Martínez, D. M. (2013). *Nuevos conceptos fisiológicos de la enfermedad ácido péptica*. Archivo medico de Camagüey.
- Narro, A. (2009). *Anatomía queuirúrgica del estómago y duodeno. Cirugía Digestiva*. F.Galileo.
- Naso, L. (2010). *Efectos antioxidantes del ácido clorogénico y su complejo con el catión Oxovanadio*. La Plata, Argentina: Facultad de Ciencias exactas.
- Navarro, A. (2009). *Anatomía queuirúrgica del estómago y duodeno. Cirugía Digestiva*. F. Galindo.
- Nelsbach, J. (2013). *Articulos en línea*. <http://vivirsinnicotina.es/curiosidades.html>.
- NOM-062-ZOO-1999, N. O. (s.f.). *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*.
- NOM-072-SSA1-2012, N. O. (s.f.). *Etiquetado de medicamentos y de remedios herbolarios*.
- Plantas medicinales. Plantas que curan* . (2013). <http://www.plantasquecuran.com/plantas-medicinales/zarzamora.html>.
- Prutton, M. S. (1999). *Fundamentos de Físicoqueuímica* . México: Limusa.
- Quezada, A. (1997). *Introducción al manejo de animales de laboratorio; roedores y pequeñas especies*. México, Yucatan: Universidad Autonoma de Yucatan.
- QUEuroz, J. (2007). *Fenoles naturales*. Ecuador: Facultad de Ciencias QUEuimicas .

- Rachel, D. M. (2012). *Manual de Farmacognosia*. México, UNAM: Facultad de QUÉuímica.
- Reyes Perez, R. (2006). *La Experiencia Panamericana en Plantas Medicinales*. Brasil: Organización Panamericana de la Salud.
- Risso, V. (2015). *Atlas digital de anatomia para el bioterio*. Universidad de Ciencias Veterinarias, FCV UBA.
- Rodriguez Palomo, D. (2010). *Actualización de la fisiología gástrica*. Costa Rica: Medicina Legal de Costa Rica.
- Royal Postgraduate Medical School, Hammersmith Hospital, Du Cane Road. Department of Gastroenterology. (2012). London: <http://www.merckwebs.uvigo.es/gastroenterology/gastric.html>.
- Sánchez Garay, M. (2010). *Panorama epidemiológico de las úlceras, gástricas y duodenitis en México*. Secretaria de Salud.
- Sanchez, N. M. (2012). *Gastroenterología. Gastritis*. México: Mc Graw-Hill.
- Sistemas de Nutrición*. (2013). http://www.genomasur.com/BCH_libro/capitulo_12.htm.
- Soybel, D. (s.f.). *Anatomía y fisiología del estómago*. Clínicas Quirúrgicas de Norteamérica.
- Vanaclocha, B. (2006). *Fitoterapia. Vademecum de prescripción*. Barcelona: Masson.
- Waldman, S. (2010). *Farmacología terapéutica. Principios para la práctica*. México: El manual moderno.
- William, L. S. (2004). *Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix*. The International Journal of biochemistry & Cell Biology.
- Williams, L. S. (s.f.). *Tisse*.
- Witchyl, M. (2004). *Herbal drugs and phytopharmaceuticals*. California: Medpharm scientific publishers Stuttgart.
- Yamada, T. (2008). *Manual de Gastroenterología*. México: Mc Graw - Hill.