

Efecto protector de látex desecado y fracción alcaloidea de *Croton palanostigma* frente a injuria de mucosa gástrica inducida por etanol en ratas

SALOMÓN AYALA¹, HILDA JURUPE¹, DAVID DÍAZ², OLGA LOCK³,
MARÍA VEGA¹, JORGE LUQUE⁴, MARCO GARNIQUE⁴

¹Departamento de Ciencias Dinámicas e ²Instituto de Patología de la Facultad de Medicina, UNMSM.

³Facultad de Química, Pontificia Universidad Católica del Perú.

⁴Estudiantes de la Escuela de Medicina Humana UNMSM. Lima, Perú.

RESUMEN

OBJETIVOS: Evaluar el grado de protección de necrosis de la mucosa gástrica por etanol, con látex desecado y fracciones alcaloideas de *C. palanostigma*, en un modelo experimental estandarizado en ratas. Evaluar toxicidad subcrónica. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Se evaluó 60 animales, administrándoles uno de 6 pretratamientos: solución salina, látex desecado de *C. palanostigma* 120 mg/kg, fracción alcaloidea de *C. palanostigma* 20 mg/kg, 35 mg/kg y 50 mg/kg y sucralfato 500 mg/kg. Una hora más tarde se aplicó por vía intragástrica 2 mL de etanol al 100%. Se realizó evaluación macroscópica y microscópica de las lesiones gástricas. Se evaluó la toxicidad subcrónica a la dosis de 0,12, 0,40 y 1,20 mL/kg, por el período de 30 días, con estudios bioquímicos e histopatológicos de los órganos. **RESULTADOS:** El pretratamiento con látex y las fracciones alcaloideas y el sucralfato redujo significativamente la necrosis hemorrágica inducida por el etanol. La toxicidad subcrónica en la dosis mayor mostró riesgo de esteatosis hepática. **CONCLUSIÓN:** En nuestras condiciones experimentales el *C. palanostigma* y la taspina presentaron importante efecto protector y potencial terapéutico. En toxicidad subcrónica, la dosis mayor presentó riesgo de esteatosis hepática.

Palabras claves: Mucosa gástrica; Plantas medicinales; Agentes antiulcerosos; Modelos animales de enfermedad.

PROTECTIVE EFFECT OF DRIED SAP AND ALKALOID FRACTION OF *Croton palanostigma* AGAINST ACUTE ETHANOL-INDUCED GASTRIC MUCOSA INJURY SUMMARY

OBJECTIVE: The gastric protective abilities of dried sap and alkaloid fraction of *Croton palanostigma* and sucralfate against ethanol-induced necrosis was compared by means of standard experimental rat model. Subchronic toxicity was determined. **MATERIAL AND METHODS:** A pretreatment with either saline solution, dried sap of *C. palanostigma* 120 mg/kg, alkaloid fraction of *C. palanostigma* 20 mg/kg, 35 mg/kg y 50 mg/kg or sucralfate was given to 60 rats. Intra-gastric administration of 2 mL of 100% ethanol was accomplished one hour later. A gastrectomy was performed four hours later followed by macroscopic and histological evaluation of the gastric lesions. Subchronic toxicity was determined with doses of 0,12, 0,40 and 1,20 mL/kg of sap for a 30-day period with biochemical and histopathologic study of the organs. **RESULTS:** Pretreatment with dried sap and alkaloid fractions of *C. palanostigma* and sucralfate resulted in a significant reduction of ethanol-induced gastric mucosa necrosis. Subchronic toxicity with *C. palanostigma* largest dose showed risk of liver steatosis. **CONCLUSION:** In the present study, dried sap and alkaloid fraction of *C. palanostigma* and sucralfate showed a significant protective effect, being potentially useful as a therapeutic tool. Subchronic toxicity in higher doses showed risk of liver steatosis.

Key words: Gastric mucosa; Plants, medicinal; Anti-ulcer agents; Disease models, animal.

Correspondencia:

Salomón Ayala Pío
Facultad de Medicina - UNMSM
Av. Grau 755. Lima 1, Perú
E-mail: d100032@sanfer.unmsm.edu.pe

INTRODUCCIÓN

El *Croton palanostigma* Klotzsch es un árbol perteneciente a la familia *Euphorbiaceae*, de cuya corteza se extrae un látex viscoso de color rojo oscuro llamado sangre de grado. Este látex viene usándose en la medicina tradicional para el tratamiento de varias dolencias, entre ellas el reumatismo (antiinflamatorio), cicatrización de heridas, hemorragias, gastritis y úlceras (¹⁻³). Un reporte reconoce el valor protector de la mucosa gástrica de *Croton palanostigma* en ratas (⁴). Vaisberg y col., trabajando con una fracción alcaloidea denominada taspina, a partir de una especie recolectada en Iquitos, encontraron actividad cicatrizante en piel, utilizando un modelo *in vivo* (⁵). Málaga, en 1991, encontró actividad cicatrizante de la taspina en la úlcera gástrica en ratas (⁶).

En trabajos previos, hemos encontrado que la administración de 0,8 y 0,4 mL/kg del látex produce una significativa protección de la mucosa gástrica de la rata frente a lesiones inducidas por la administración de etanol absoluto (^{7,8}); y, siguiendo nuestra línea de investigación, en el presente trabajo se evalúa la acción del látex desecado, a la dosis de 120 mg/kg, así como de las fracciones alcaloideas a las dosis de 20, 35 y 50 mg/kg, sobre la mucosa gástrica, comparándola con un reconocido citoprotector, como el sucralfato (^{9,10}). Anteriormente se encontró que la dosis letal 50 del látex por la vía oral en ratones es de 24 mL/kg y en el presente trabajo se evalúa la toxicidad subcrónica del látex a las dosis de 0,12, 0,40 y 1,20 mL/kg, por el período de 4 semanas.

MATERIAL Y MÉTODOS

La resina del *Croton palanostigma* (material vegetal) fue obtenida en el Departamento de San Martín - Perú, dos meses antes de los experimentos, y conservada a 10°C de temperatura.

Se empleó una suspensión de sucralfato (Ulcogant®), Merck Sharp & Dohme, que contiene 1 g en 5 mL (material farmacológico). Los

animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (Halatal®), Sanivet, que contiene 6,5 g en vehículo y excipientes csp 100 mL.

La preparación del látex desecado se realizó en estufa a temperatura de 35-40°C, obteniéndose aproximadamente 20% de látex desecado del peso total del látex.

10 mL de látex fue desecado a 40°C hasta peso constante, obteniéndose 3,2 g de muestra seca. Para la obtención del extracto bruto alcaloidal (2 g de muestra seca), se extrae con 30 mL de solución de ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 2%, con agitación constante durante 10 minutos a temperatura ambiente; luego se basifica con amoníaco hasta pH 11 y finalmente se extrae con diclorometano (CH₂CL₂) (10 mL por 10 veces). Se lleva a sequedad, obteniéndose 49,5 mg del extracto bruto alcaloidal. La valoración de este extracto en medio no acuoso da como resultado 1,12% de alcaloides totales, expresado como taspina.

Las evaluaciones fueron realizadas en 60 ratas albinas de la cepa Balck, de ambos sexos (30/30), que pesaban entre 240 y 270 g, alimentadas de manera regular, a quienes se les pone en ayunas un día antes de los experimentos. Cada grupo fue de 10 ratas, trabajadas en fechas diferentes, con intervalo de 15 días; recibieron uno de seis pretratamientos administrados por vía orogástrica, mediante cánula metálica. Estos consistieron en solución salina 2 mL, látex desecado 120 mg/kg, fracción alcaloidea 20 mg/kg, fracción alcaloidea 35 mg/kg, fracción alcaloidea 50 mg/kg y sucralfato 500 mg/kg. Una hora después del pretratamiento, se administró 2 mL de etanol absoluto, vía orogástrica, a todas las ratas. Cuatro horas después de la administración de etanol, las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico a la dosis de 50 mg/kg intraperitonealmente. Se realizó laparotomía, ligadura del píloro y del esófago y extracción del estómago. Se coleccionó el jugo gástrico para posterior determinación de proteínas (¹¹). Para determinar el porcentaje de áreas necrohemorrágicas, se siguió el método descrito anteriormente (⁷), modificado por la aplicación del

programa de cómputo Image 200. La evaluación microscópica también fue descrita en el mismo reporte.

Para los estudios estadísticos de las lesiones, así como la liberación de proteínas, se usó la prueba *t* de Student, aceptándose significación estadística para un valor de $P < 0,05$, mediante el paquete estadístico SPSS versión 9,0.

Para la toxicidad subcrónica, se utilizó 64 ratas de la cepa Balck, de ambos sexos (32/32). Las hembras nulíparas y no preñadas, de peso inicial entre 190 y 240 g, recibieron dieta balanceada para roedores y agua a disposición. Los grupos fueron de 16 ratas que recibieron diariamente, por vía orogástrica con cánula metálica, solución salina 1 mL/100 g de peso, látex *C. palanostigma* 0,12 mL/kg, látex *C. palanostigma* 0,40 mL/kg, látex *C. palanostigma* 1,20 mL/kg, por el período de 30 días, menos los días domingos. A todos los animales se les controló el peso dos veces por semana, observándose si había cambios externos en el pelaje, piel y mucosas, así como en la actividad sicomotora. Al final del experimento, se tomó sangre por punción cardíaca, para determinación de hemoglobina, tiempo de trombina, transaminasa

glutámico pirúvica (ALT) y transaminasa glutámico oxalacética (AST), fosfatasa alcalina (Merck), urea, por el método colorimétrico a punto final (Sigma). Inmediatamente fueron sacrificados y necropsiados; se extrajo hígado, riñones, bazo, corazón y pulmones, que fueron fijados en formol neutro al 10%. Se tomó los pesos de los órganos, se procedió al examen macroscópico y toma de muestras representativas de cada órgano, inclusión en parafina, coloración con hematoxilina-eosina y preparación de láminas para evaluación histopatológica de cada uno de los órganos.

RESULTADOS

En la evaluación macroscópica, el porcentaje de área necrohemorrágica del grupo control alcanzó un promedio de 18,71 %, siendo el obtenido para látex desecado de 0,61 %, notando una reducción altamente significativa. El efecto de la fracción alcaloidea de 20 mg/kg alcanzó una reducción significativa, y a las dosis de 35 y 50 mg/kg, la reducción del área necrohemorrágica fue altamente significativa y de igual manera fue el efecto del sucralfato (Figuras 1 y 2).

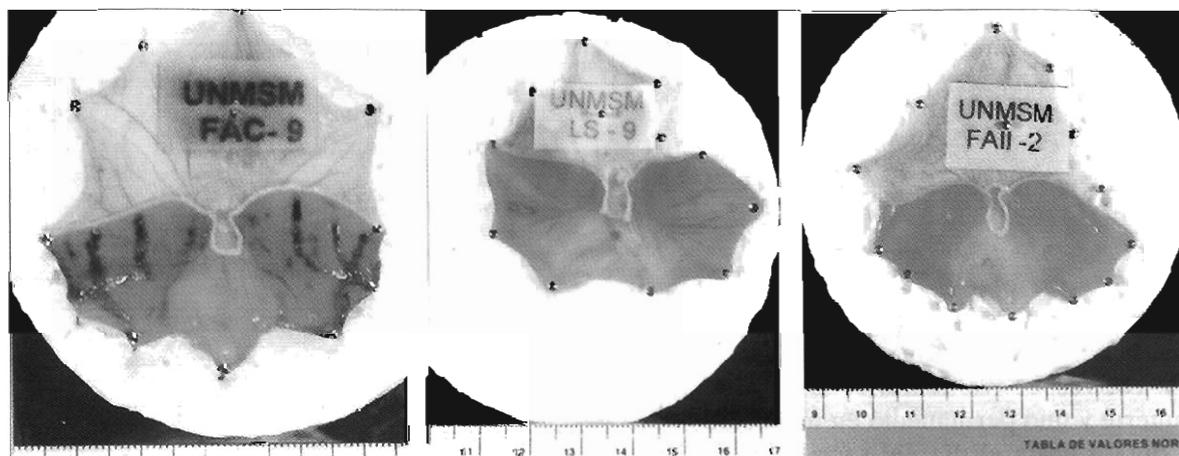
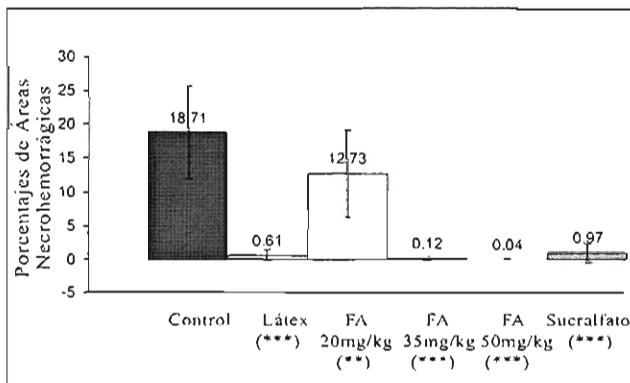


Figura 1.- Izquierda: Aspecto macroscópico de la mucosa gástrica en la rata control. Centro: Estómago de la rata que recibió pretratamiento de látex desecado de *C. Palanostigma*. Derecha: Estómago de la rata que recibió pretratamiento con fracción alcaloidea 50 mg/kg. Nótese las lesiones necrohemorrágicas francas en las ratas pretratadas con solución salina y la relativa ausencia de tales lesiones en los otros dos casos.



*** $P < 0,0005$
 ** $P < 0,05$ comparado con el control.
 Cada grupo tiene 10 ratas.

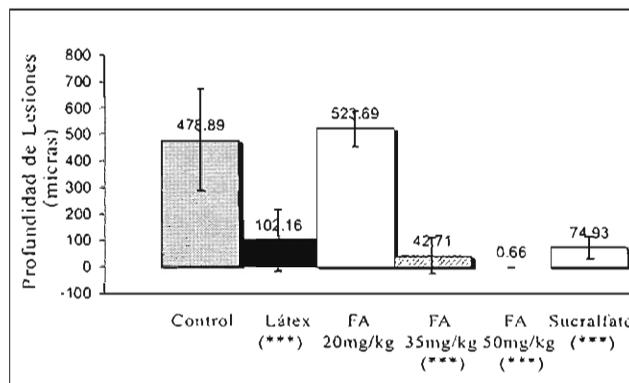
Figura 2.- Porcentaje de áreas necrohemorrágicas de la mucosa gástrica.

La evaluación microscópica mostró que la menor profundidad de las lesiones necróticas se presenta en los grupos tratados con látex desecado, fracción alcaloidea de 35 y 50 mg/kg y sucralfato, que son altamente significativos ($p < 0,0005$) (Figura 3).

Los volúmenes de jugo gástrico encontrados también mostraron una reducción notoria en todos los estómagos tratados, en comparación con el control. La liberación de proteínas en el jugo gástrico disminuye en forma altamente significativa con el látex desecado y de igual manera con las tres dosis de las fracciones alcaloideas y con el sucralfato ($p < 0,0005$) (Figura 4).

Con respecto a la toxicidad subcrónica, todos los animales de los grupos control y tratamiento subieron de peso en forma no significativa. No se registró muertes en el grupo control. En el grupo de dosis menor murió un animal a los 8 días. A la dosis intermedia, murieron 3, los días 4, 8 y 16, respectivamente. A la dosis mayor, una muerte y uno permaneció en mal estado desde el día 24 hasta el día del sacrificio (día 30). No se notó cambios en los otros animales.

La hemoglobina promedio del grupo control fue $15,5 \text{ g} \% \pm 0,16$ habiendo una disminución

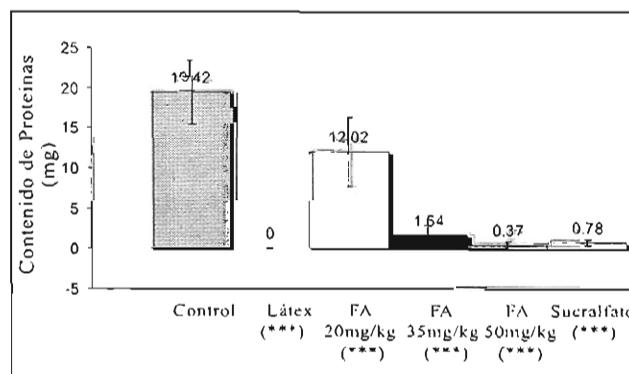


*** $P < 0,0005$ comparado con el control.
 Cada grupo tiene 10 ratas.

Figura 3.- Profundidad de las lesiones necrohemorrágicas de la mucosa gástrica, inducidas por etanol.

a $14,5 \text{ g} \% \pm 1,26$, $13,26 \text{ g} \% \pm 0,98$ y $12,28 \text{ g} \% \pm 2,34$ con las dosis de 0,12, 0,40 y 1,20 mL/kg, respectivamente. El tiempo de trombina del grupo control fue $15,19 \text{ segundos} \pm 0,98$ y de los grupos pretratados, $14,98 \pm 0,54$, $13,16 \pm 1,08$ y $16,32 \pm 0,45$, cambios estadísticamente no significativos.

Las transaminasas glutámico pirúvicas no presentaron cambios significativos. A la dosis



*** $P < 0,0005$ comparado con el control.
 Cada grupo tiene 10 ratas.

Figura 4.- Contenido de proteínas del jugo gástrico, cuatro horas después de la administración de etanol.

Tabla 1.- Cambios bioquímicos en suero de ratas tratadas con látex de *C. palanostigma* durante 30 días.

Grupos	Transaminasa GP U/L (Promedio ± DE)	Transaminasa GO U/L (Promedio ± DE)	Fosfatasa alcalina U/L (Promedio ± DE)	Úrea mg% (Promedio ± DE)
Solución salina	90,22 ± 8,22	122,94 ± 9,33	72,25 ± 6,95	36,25 ± 3,24
<i>C. palanostigma</i> 0,12 mL/kg	95,32 ± 6,98	131,68 ± 4,58	80,00 ± 16,32	34,49 ± 4,36
<i>C. palanostigma</i> 0,40 mL/kg	101,63 ± 6,48	136,49 ± 10,45	103,41 ± 2,98*	35,89 ± 5,68
<i>C. palanostigma</i> 1,22 mL/kg	100,25 ± 4,59	154,43 ± 6,98*	98,62 ± 3,25*	35,89 ± 10,49

* *t* de Student $p < 0,05$

mayor, las transaminasas glutámico oxalacéticas se elevaron 0,3 veces. En cuanto a la fosfatasa alcalina, en las dosis intermedia y mayor, presentó un aumento de 0,5 veces. La urea no presentó alteraciones (Tabla 1).

Luego de la necropsia, los pesos de los hígados no variaron significativamente (Tabla 2). En dos hígados del grupo tratado con la mayor dosis se observó macroscópicamente un área amarillenta de aproximadamente 8 x 3 mm, de aspecto esteatósico. Los riñones, bazo, corazón y pulmones no variaron macroscópicamente, con respecto a los animales no tratados.

En cuanto al aspecto histológico, cabe resaltar la presencia de esteatosis hepática a gotas pequeñas en 2 ratas (13,3%) del grupo tratado con la dosis mayor (Figura 5 y Tabla 3).

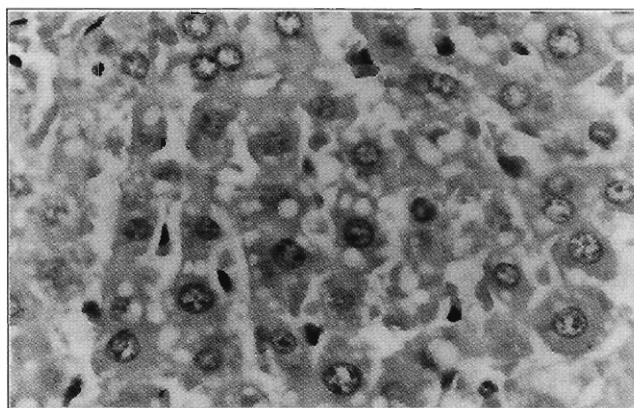


Figura 5.- Microfotografía de tejido hepático, región pericentrolobulillar, tinción II-E, 400X. Esteatosis hepática microvesicular: Nótese las microvesículas grasa a nivel del citoplasma de los hepatocitos.

Tabla 2.- Peso de hígados de ratas tratadas con látex de *C. palanostigma* durante 30 días.

Pretratamiento (g)	N° de animales	Promedio ± DE p*	Valor de
Solución salina	6	7,36 ± 1,15	
<i>C. palanostigma</i> 0,12 mL/kg	15	7,71 ± 1,53	$P > 0,1$
<i>C. palanostigma</i> 0,40 mL/kg	13	7,31 ± 1,24	$P > 0,1$
<i>C. palanostigma</i> 1,22 mL/kg	15	7,18 ± 1,55	$P > 0,1$

* Comparación con el grupo de solución salina, usando *t* de Student.

Tabla 3.- Lesiones histopatológicas de los órganos en ratas tratadas durante 30 días.

Grupo	n	Hígado		Riñón		Pulmón	
		Esteatosis focal	Esteatosis difusa	Micro-hemorragia	Edema focal	Micro-hemorragia	Hemorragia
Solución salina	16	3	0	10	1	11	3
<i>C. palanostigma</i> 0,12 mL/kg	15	0	0	15	2	10	1
<i>C. palanostigma</i> 0,40 mL/kg	13	1	0	7	1	2	1
<i>C. palanostigma</i> 1,22 mL/kg	15	0	2	14	3	8	1

Esteatosis focal se presentó en 3 ratas del grupo control, en una rata de la dosis intermedia y en ninguna de la dosis mayor. La congestión vascular se presentó en 80 a 90 por ciento de los hígados, riñones y pulmones estudiados. En corazón y bazo, todos presentaron congestión vascular. Se notó presencia de lesiones hemorrágicas pulmonares en el grupo control. Hubo un caso de neumonitis aguda en el mismo grupo.

DISCUSIÓN

En estudios experimentales anteriores se ha demostrado el significativo efecto protector de la mucosa gástrica de la resina de *C. palanostigma* en dosis de 0,4 y 0,8 mL/kg^(4,7) y se ha determinado que la dosis mínima protectora es de 0,4 mL/kg, frente a la injuria por etanol absoluto en ratas⁽⁸⁾. En el presente trabajo se demuestra que, tanto sobre el área de lesiones necrohemorrágicas como en el grado de profundidad de las lesiones, el látex desecado, a la dosis de 120 mg/kg, conserva su propiedad protectora de manera estadísticamente significativa. En el comercio farmacéutico existió una forma desecada en tabletas, pero no tuvo acogida por la población y posiblemente el motivo sea que, en la medicina tradicional, siempre se ha usado la resina en su estado líquido natural, en forma altamente diluida.

Luego del proceso de extracción de la fracción alcaloidea, taspina, se demuestra el efecto protector altamente significativo de las dosis de 35 y 50 mg/kg, tanto considerando las áreas necrohemorrágicas como microscópicamente sobre la profundidad de las lesiones, comparadas con el control. Se colige que esta fracción es, en todo caso, un responsable del efecto protector, aunque no necesariamente el único, ya que pueden intervenir los otros componentes, que habría que estudiarlos, ya que está demostrado que la resina total mantiene el efecto protector. Málaga, en 1991, observó que la taspina a la dosis de 37,5 mg/kg redujo al 50% los índices de ulceración de las ratas que recibieron indometacina⁽⁶⁾. Estos efectos de la sangre de grado se corroboran en un estudio reciente de úlceras experimentales provocadas por ácido acético, en que se demuestra que favorecen su cicatrización⁽³⁾, como en el caso del sucralfato, en que se observa una disminución en la liberación de proteínas, como expresión de menor daño inflamatorio^(9,10). En esta investigación se obtiene una reducción significativa, tanto con el látex desecado como con las tres dosis del extracto alcaloideo. El etanol, como agente gastrolesivo, produce daño independientemente de la acidez gástrica^(10,12,13), de tal manera que las sustancias que protegen frente a esta injuria pueden ser denominadas citoprotectoras⁽¹²⁾. Esto ha sido demostrado con las prostaglandinas^(12,14,15) y con algunos fármacos, como el

sucralfato, considerando que sus mecanismos pueden incluir la formación de una "barrera protectora" de la mucosa lesionada, desactivación y unión con pepsina, ligazón con ácidos biliares y liberación de prostaglandinas^(9,10,16). Otros experimentos han demostrado que la cicatrización de las úlceras se favorecen por acciones antimicrobianas y antiinflamatorias⁽¹⁷⁾. En el presente estudio no se ha observado la fuerte adherencia de la sangre de grado a las lesiones necrohemorrágicas, como fue descrito anteriormente. En este caso, se ha usado la resina seca y diluida y la fracción alcaloidea que, macroscópicamente, no presentan esta propiedad, pero que mantienen las propiedades protectoras de la mucosa gástrica.

Pocos estudios de toxicidad subcrónica se ha realizado sobre sangre de grado. Se ha encontrado citotoxicidad con taspina, con IC50 de 0,39 µg/mL, contra células KB y 0,17 µg/mL contra células V-79⁽¹⁸⁾, mientras que hay ausencia de citotoxicidad con resina con IC50 mayor de 900 µg/mL y con otras fracciones⁽¹⁹⁾. La toxicidad aguda de la resina es baja, siendo la DL50 en ratones 24 mL/kg, lo cual es 60 veces mayor que la dosis de 0,4 mL/kg, eficaz en la protección de la mucosa gástrica⁽⁷⁾. En el presente estudio se demostró esteatosis hepática a gota fina en dos ratas (13,3%) que recibieron la dosis de 1,20 mL/kg por un período de 30 días. La esteatosis microvesicular ha sido descrita en animales de experimentación con ácido valproico, tetraciclina, AINES^(20,21) y puede producirse en roedores por deficiencia de lipotropos, como colina y metionina^(22,23). Se considera que estas etiologías de hígado graso, básicamente, causan daño mitocondrial, como consecuencia de la deficiente oxidación de ácidos grasos, con depósitos de lípidos asociados a la inhibición de CYP^(23,24).

No hemos encontrado reportes en la clínica de esteatosis hepática producida por plantas medicinales, presentándose esta toxicidad como hepatitis aguda, con o sin colestasis, hepatitis crónica activa, enfermedad venooclusiva, fibrosis y cirrosis⁽²⁵⁾, aunque la esteatosis a gota fina

ha sido encontrada con relación a la administración de varios fármacos, entre ellos, valproato de sodio, tetraciclina en embarazadas, alcoholismo, obesidad⁽²⁶⁾. La elevación de transaminasas y fosfatasa alcalina es mínima en el grupo experimental de mayor dosis, lo que se relaciona con esteatosis hepática aislada, sin compromiso hepatocelular.

La esteatosis focal, mayormente observada en el grupo control, puede ser de etiología multifactorial⁽²⁷⁾. Los casos de congestión, hemorragia pulmonar y neumonitis aguda, probablemente han sido producidos durante la administración orogástrica con cánula metálica y puede ser la causa de las muertes en este experimento.

Se requiere estudios dirigidos para determinar la potencial hepatotoxicidad experimental.

Como conclusión, en nuestras condiciones experimentales, *Croton palanostigma* desecado y taspina presentaron un importante efecto protector de la mucosa gástrica y potencial eficacia terapéutica. En toxicidad subcrónica, mostró potencialidad de producir esteatosis hepática.

Trabajo realizado con el apoyo del Concejo Superior de Investigación, UNMSM.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Arellano P. El Libro Verde. Guía de Recursos Terapéuticos Vegetales. Lima: Ministerio de Salud 1992; 33,46,53.
- 2) Estrella E. Plantas Medicinales Amazónicas. Tratado de Cooperación Amazónica. Lima-Peru: Secretaria Pro-Tempore 1995; 210-2.
- 3) Miller MJS, Mac Naughton WK, Zhang XJ, Sandoval M. Treatment of gastric ulcers and diarrhea with the Amazonian herbal medicine sangre de grado. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2000; 279:G192-G200.
- 4) Tapia SB, Principe H, Rachumi M. Estudio controlado del efecto preventivo y terapéutico de *Croton palanostigma*. Aloe vera y Omeprazol sobre lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas albinas. Congreso Peruano de Gastroenterología. Lima 1996.
- 5) Vaisberg AJ, Milla M, Planas MC, Cordova JL, Agusti ER, Ferreira R, Nustiga MC, Carlin L, Hammon GB. Taspine is cicatrizant principle in sangre de grado extracted from *Croton lechleri*. Planta Med 1989; 55 (2):140-3.

- 6) **Málaga GE.** Efecto del clorhidrato de taspina sobre la curación de la úlcera gástrica inducida en ratas. Tesis de bachiller en Biología. Lima. Univ. Peruana Cayetano Heredia 1991.
- 7) **Ayala S, Díaz D, Palomino M, Armas S, Paz J.** Efecto protector de *Croton palanostigma* y *Aloe vera* frente a injuria aguda de mucosa gástrica inducida por etanol en ratas. *Anales de la Facultad de Medicina* 1999; 60(1):22-9.
- 8) **Ayala S, Jurupe H, Diaz D, Ore R, Cárdenas W, Espejo L.** Efecto protector de *Phthirusa pyrifolia* y *Croton palanostigma* sobre lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas. *SITUA* 2000;16:12-6.
- 9) **Harrington SJ, Schelegel JF, Code CF.** The protective effect of sucralfate on the gastric mucosa of rats. *J Clin Gastroenterol* 1981; 3:129-34.
- 10) **Tarnawski A, Hollander D, Gergely H, Stachura J.** Comparison of antacid, sucralfate, cimetidine and ranitidine in protection of the gastric mucosa against ethanol injury. *Am J Med* 1985; 79:19-23.
- 11) **Bradford M.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72:248-54.
- 12) **Robert A, Nezamis RA, Lancaster JE, Hanchar AJ.** Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterol* 1979; 77:433-43.
- 13) **Davenport HW.** Ethanol damage to canine oxyntic glandular mucosa. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967; 126:657-62.
- 14) **Guth PH, Aures D, Paulson G.** Topical aspirine plus HCl gastric lesions in the rat: cytoprotective effect of prostaglandin, cimetidine, and probanthine. *Gastroenterol* 1979; 76:88-93.
- 15) **KonturekSJ, Radecki T, Brzozowski T, Piastocki I, Dcmbiskakieg A, Zmuda A.** Gastric cytoprotection by prostaglandins, ranitidine, and probanthine in rats. *Scand J Gastroenterol* 1981; 16:7-12.
- 16) **Nagashima R.** Mechanism of action of sucralfate. *J Clin Gastroenterol* 1981; 3(suppl 2):117-27.
- 17) **Elliot SN, Buret A, Mc Knight W, Miller MJS, Wallace JL.** Bacteria rapidly colonize and delay the healing of gastric ulcers in rats. *Am J Physiol* 1998; 275: G425-G432.
- 18) **Itokawa H, Ichihara Y, Mchizuki M, Enomori T, Morita H, Shiota O, Inamatsu M, Takeya K.** A cytotoxic substance from sangre de grado. *Chem Pharm Bull (Tokio)* 1991; 39 (4):1041-2.
- 19) **Chen ZP, Cai Y, Phillipson JD.** Studies on the antitumour, antibacterial and wound healing properties of dragon's blood. *Planta Med* 1994; 60:6541-5.
- 20) **Breen KJ, Schenker S, Heimberg M.** Fatty liver induced by tetracycline in the rat: Dose response relationships and effect of sex. *Gastroenterol* 1975; 69:714-23.
- 21) **Fromenty B, Fisch C, Berson A, Letteron P, Larrey D, Pessayre D.** Amiodarone inhibits the mitochondrial beta oxidation of fatty acids and produces microvesicular steatosis of the liver in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 255:1371-6.
- 22) **Rogers AE, Newberne PM.** Animal model. Fatty liver and cirrhosis in lipotrope-deficient male rats *Am J Pathol* 1973; 73:817-20.
- 23) **Su GM, Sefton RM.** Murria M. Down-regulation of rat hepatic microsomal cytochromes P-450 in microvesicular steatosis induced by orotic acid. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 291:953-9.
- 24) **Berson A, De Boca LP, Robin MA, Moreao C, EL Kahwaji J, Verthier N, Feldmann G, Fromenty B, Pessayre D.** Steatohepatitis-inducing drugs cause mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation in rat hepatocytes. *Gastroenterol* 1998; 114:764-74.
- 25) **Bashir RM, Lewis JH.** Hepatotoxicity of drugs used in the treatment of gastrointestinal disorders. *Gastroenterol Clin N Am* 1995; 24(4):937-61.
- 26) **Sherlock S.** Enfermedades del hígado y vías biliares. *El Ateneo* 1995; 365-70.
- 27) **Rubin Farber JL.** Patología. Editorial Médica Panamericana 1990; 682-5.