

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS,
BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



“Evaluación del efecto Antidiarreico y Antiespasmódico de los extractos de hojas de *Camellia sinensis* (té verde) en animales de experimentación. Arequipa - 2014”

Presentado por los bachilleres:

Zavala Silva, Marco Antonio

Gómez Aguirre, Rossella Karla

Para optar el título Profesional de
Químico Farmacéutico

Asesor:

Mg. María Elena Guillen

AREQUIPA – PERÚ

2014

AGRADECIMIENTOS

A Dios, fuente de luz y sabiduría que guía mi camino, acompañándome a lo largo de la vida brindándome fuerzas para vencer los obstáculos y hacer posible el logro de mis metas.

Esta tesis está dedicada a nuestros padres, hijos, esposos, a quienes les agradecemos de todo corazón por su amor, cariño, paciencia y comprensión.

A la UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA y a LA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS del programa de FARMACIA Y BIOQUIMICA por ser nuestra casa de formación y desarrollarnos como profesionales

A la Q.F María Elena Guillen por su valiosa instrucción y asesoramiento de tesis, por su apoyo oportuno durante el proceso de realización de nuestra tesis, muchas gracias.

A los miembros del jurado examinador, por sus exigencias en la redacción y revisión del proyecto de tesis.

Al personal administrativo del programa profesional de Farmacia y Bioquímica por facilitarnos los tramites de nuestro proyecto de tesis. Y a todas aquellas personas que de una y otra forma, colaboraron y participaron en la realización de esta investigación, hago extensivo mi más sincero agradecimiento.

DEDICADO A:

Al invaluable apoyo e inspiración que generaron mis padres, Marcela y Jorge por darme todo lo que soy como persona, A mi esposo Pablo, por apoyarme con mis valores, mis principios, mi perseverancia, mi empeño, y todo ello con una gran dosis de amor a mi hijo Mateo que es el motivo para culminar con una de mis metas trazadas, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han estado apoyándome, por todo esto les agradezco de todo corazón el que estén conmigo a mi lado.

Rossella Gómez Aguirre

A mis padres, por ser siempre mi apoyo incondicional en todo momento, los amo; a mis hermanos Karlo y Geral por su amor y amistad, al brindarme su confianza, sacrificio y ayuda permanente y desinteresada.

A mi esposa, Yanet mi inspiración y compañera. A mis Hijos Derek, Marco y Fabian, por ser mi fuente de motivación, gracias a su comprensión

Marco Zavala Silva

ÍNDICE GENERAL

	Pg.
RESUMEN	1
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	6
OBJETIVOS	8
HIPÓTESIS	9
CAPÍTULO I	10
MARCO TEÓRICO	10
1.1. TÉ	10
1.1.1. Nombre científico	10
1.1.2. Nombres populares	10
1.1.3. Descripción botánica:	11
1.1.4. Hábitat:	11
1.1.5. Clasificación taxonómica	12
1.1.6. Parte útil	12
1.1.7. Composición:	13
1.1.8. Acción farmacológica y empleo	13
1.1.9. Efectos adversos y/o tóxicos	14
1.1.10. Usos etnomedicinales	15
1.2. FISIOLÓGÍA GASTROINTESTINAL	15
1.2.1. Transporte hidroelectrolítico intestinal	15
1.2.1.1 Absorción intestinal	16
1.2.1.2 Secreción intestinal	18

	Pg.
1.2.2. Motilidad	19
1.2.2.1 Sistema nervioso entérico	20
1.3. DIARREA	25
1.3.1. Definición	25
1.3.2. Diarrea aguda	25
1.3.3. Diarrea crónica	26
1.3.4. Diagnóstico y tratamiento	27
1.4. ANTIESPASMÓDICOS	29
1.5. LOPERAMIDA	30
1.5.1. Propiedades farmacológicas	30
1.5.2. Mecanismo de acción	31
1.5.3. Indicaciones.	31
1.5.4. Dosificación.	31
1.5.5. Reacciones adversas.	31
1.5.6. Precauciones y advertencias.	32
1.5.7. Interacciones.	32
1.5.8. Contraindicaciones.	32
 CAPÍTULO II	 33
 MATERIALES Y MÉTODOS	 33
 2.1. CAMPO DE INVESTIGACIÓN	 33
2.1.1. Unidades de estudio	33
2.1.2. Ámbito geográfico y temporalidad	33
2.2. MATERIALES	34
2.2.1. Unidad animal	34
2.2.2. Unidad farmacológica	34
2.2.3. Materiales de laboratorio	34
2.2.3.1 Material de vidrio	34
2.2.3.2 Reactivos	35

	Pg.
2.2.3.3 Equipos de laboratorio	36
2.2.3.4 Otros	36
2.3. MÉTODOS	38
2.3.1. Obtención del material vegetal	38
2.3.1.1 Ubicación	38
2.3.2. Trituración del material vegetal	39
2.3.3. Obtención de los extractos	40
2.3.3.1 Método de decocción	40
2.3.3.2 Método de Soxhlet	41
2.3.4. Identificación fitoquímica preliminar	43
2.3.4.1 Cromatografía en capa delgada	43
2.3.5. Evaluación de la actividad antidiarreica del té	45
2.3.5.1 Fase de estandarización y acondicionamiento de los animales	45
2.3.5.2 Fase de inducción de diarrea con aceite de ricino	45
2.3.5.3 Fase de evaluación de la actividad antidiarreica	46
2.3.5.4 Evaluación piloto	46
2.3.5.5 Evaluación final	47
2.3.6. Evaluación de la actividad antiespasmódica del té	47
2.3.6.1 Evaluación del tránsito intestinal	48
2.3.6.2 Evaluación del número de contracciones	49
2.3.7. Métodos estadísticos	51
2.3.7.1 Parámetros de tendencia central y dispersión.	51
2.3.7.2 Análisis de varianza	51
 CAPÍTULO III	 52
 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	 52
 3.1. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS	 52
3.2. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA	53

	Pg.
3.2.1. Determinación de terpenos	53
3.2.2. Determinación de taninos.	54
3.3. ACTIVIDAD ANTIDIARREICA	55
3.4. ACTIVIDAD ANTIESPASMÓDICA	66
CONCLUSIONES	73
SUGERENCIAS	75
BIBLIOGRAFÍA	76
ANEXOS	79



RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó el probable efecto antidiarreico y antiespasmódico de los extractos de hojas de té verde (*Camellia sinensis*) en animales de experimentación, indagación que se realizó en los laboratorios de Farmacognosia y en el Bioterio de la Universidad Católica de Santa María entre los meses de marzo a julio de 2014.

Como punto de partida luego de adquirir el material vegetal, recolectado en el distrito de Huayopata, (Convención-Cuzco). Se llevó a cabo la prueba piloto donde se demostró que la dosis que induce diarrea en animales de experimentación de aceite de ricino es de 2 mL, ya que a esta dosis la masa de las deposiciones aumento en un 78 %, y la frecuencia aumento en un 150 %.

Luego se procedió con la investigación para determinación de la actividad antidiarreica se realizó en 20 animales de experimentación, divididos en cuatro grupos (control negativo, decocción, extracto seco y loperamida o control positivo). La actividad antiespasmódica se realizó mediante dos métodos el primero midiendo el tránsito intestinal mediante la administración de carbón activado como sustancia marcadora; y el segundo sometiendo segmentos de 5cm de intestino delgado en solución de Tyrode en el quimógrafo para determinar el número de contracciones. Para el primer método se utilizaron 15 animales de experimentación, y

para el segundo 7 animales. Todos los animales para la actividad antiespasmódica fueron sacrificados y enterectomizados.

Luego de los resultados satisfactorios se evaluó al extracto de té verde obtenido mediante Soxhlet, en dos dosis una de 500 mg/Kg y otra de 1000 mg/Kg, siendo esta última la que presenta mayor eficacia como antidiarreico, ya que esta última disminuyó la masa en un 66,4 %, mientras que la primera disminuyó en 41,20 %. En relación a la frecuencia, la dosis de 1000 mg/Kg disminuyó en un 73,7 % y la de 500 mg/Kg disminuyó 26,3 %, tomando en cuenta la masa y frecuencia de deposiciones del grupo control.

Con el extracto obtenido mediante Soxhlet se procedió a realizar la identificación fitoquímica preliminar, encontrándose la presencia de terpenos y taninos.

En cuanto al grupo tratado con el extracto obtenido mediante decocción no presenta mucha eficacia ya que los resultados de masa y frecuencia de deposiciones se comparan al grupo control. El extracto seco también presenta actividad antiespasmódica *in vivo*, debido a que disminuye el tránsito intestinal, siendo su porcentaje de 60,3 % distinto al grupo control que es de 79,3 %, sin embargo, es distinto a lo observado con la loperamida. La frecuencia de contracciones observada mediante equipo quimógrafo se manifiesta a una concentración *in vitro* de 200 µg/mL, ya que las contracciones disminuyeron en comparación al grupo control en un 42,6 %.

Finalmente se determinó que luego de la administración de los extractos; la masa de las deposiciones de la decocción disminuyó en un 17,8 %, el extracto seco disminuyó en un 34,1 % y la loperamida disminuyó en 91,8 % en comparación al grupo control. En relación a la frecuencia de las deposiciones se determinó que la

decocción disminuyó en 9,1 %, el extracto seco en 36,4 % y la loperamida en 95,5 %, en comparación al control.

Luego del análisis de los datos obtenidos se pudo establecer como conclusión que el extracto de té verde obtenido mediante extracción Soxhlet, mostró actividad antidiarreica ya que presentó una masa y frecuencia de deposiciones diferente del grupo control; sin embargo, esta eficacia no es similar al observado con la loperamida. Por lo tanto se logró determinar que el Té verde, tiene efecto antidiarreico y antiespasmódico.



ABSTRACT

In the present research the likely antidiarrheal and antispasmodic effect of extracts of green tea leaves (*Camellia sinensis*) in experimental animals inquiry that was conducted in the laboratories of Pharmacognosy and the Vivarium of the Catholic University of Santa was evaluated Mary between the months of March to July 2014.

As a starting point after acquiring the plant material collected in the district of Huayopata, (Convention-Cuzco). It was carried out the pilot where it was shown that the dose inducing diarrhea in experimental animals castor oil is 2 mL, and that at this dose the mass of stools increased by 78%, and often increase in 150%.

Then he proceeded with research to determine the antidiarrheal activity was performed in 20 experimental animals divided into four groups (negative control, decoction, dry extract loperamide or positive control). The antispasmodic activity was performed by two methods the first measuring intestinal transit by administering activated charcoal marker substance; and subjecting the second segments of small intestine 5cm in Tyrode solution at kymograph to determine the number of contractions. For the first method 15 experimental animals were used, and for the second seven animals. All animals for antispasmodic activity were sacrificed and enterectomizados.

The green tea extract obtained by Soxhlet in two doses of 500 mg / Kg and a 1000 mg / kg was then satisfactory results evaluated, the latter being it is more effective to treat diarrhea, as the latter decreased 66.4 mass%, while the first declined 41.20%. In relation to the frequency, the dose of 1000 mg / Kg 73.7% dismuniyo and 500 mg / kg decreased by 26.3%, taking into account the mass and stool frequency control group.

With the extract obtained by Soxhlet proceeded to carry out the preliminary phytochemical identification, finding the presence of terpenes and tannins.

As for the treaty with the extract obtained by decoction group it does not present much effectiveness as the results of mass and stool frequency compared to the control group. The dry extract also presents antispasmodic activity in vivo, due to decreased intestinal transit, and its percentage of 60.3% than the control group is 79.3%, however, is different to that observed with loperamide. The frequency of contractions observed by computer kymograph manifests an in vitro concentration of 200 mg / mL, contractions decreased as compared to the control group 42.6%.

Finally it determined that following administration of the extracts; the mass of stool decoction decreased by 17.8% dry matter decreased by 34.1% and 91.8% loperamide decreased compared to the control group. Regarding the frequency of stools it was determined that the decoction decreased by 9.1%, dry matter 36.4% and 95.5% loperamide, compared to control.

After analyzing the data obtained it was established as a conclusion that green tea extract obtained by Soxhlet extraction, showed antidiarrheal activity since it presented a mass and stool frequency different from the control group; However, this efficiency is similar to that observed with loperamide. Therefore it was determined that green tea has antidiarrheal and antispasmodic effect.

INTRODUCCIÓN

La población dispone de muchos recursos terapéuticos para el alivio de la sintomatología de diversas enfermedades, entre estos se encuentran las plantas medicinales. Varias de ellas han sido estudiadas tanto a nivel local como internacional, sin embargo, los estudios realizados en otros ámbitos científicos pueden presentar resultados diferentes en otros lugares, ello debido a una sencilla y conocida razón, las plantas no son individuos idénticos, por lo que en ellas existe una variabilidad biológica que repercute en la cantidad y calidad de metabolitos secundarios, algunos de los factores intervinientes son el clima, el terreno, el cultivo, entre otros factores extrínsecos⁽⁷⁾.

En nuestro medio se comercializa el té verde (*Camellia sinensis*) producto natural que tiene investigaciones realizadas en otras latitudes⁽²⁾ sin embargo en nuestro medio no existen estudios realizados sobre los especímenes comercializados en el mercado local y que son provenientes de la ciudad de Cuzco, específicamente Quillabamba. Entre los usos señalados al té es la de ser antidiarreico y digestivo, ingiriéndose las tisanas o extractos acuosos de sus hojas. Realizadas las indagaciones a esta probable actividad antidiarreica no se encuentran disponibles estudios que sustenten esta supuesta actividad.

Los considerandos anteriores fueron justificación suficiente para iniciar un estudio que evalúe la actividad antidiarreica y antiespasmódica del té como té verde. El presente trabajo de investigación es un estudio experimental pre-clínico en animales de experimentación tipo ratas de laboratorio, y constituye un esfuerzo para conocer mejor los recursos naturales que utiliza la población en su afán de eliminar sus dolencias.

Para una mejor descripción del trabajo de investigación se ha organizado colocando. Primeramente, los objetivos, hipótesis; luego el Capítulo I: Marco Teórico, en el cual se desarrolla la descripción del Té, la Fisiología Gastrointestinal, la Diarrea, y la Loperamida.

En el Capítulo II: se describe los materiales y métodos, la obtención de los extractos, la evaluación de la actividad antidiarreica y antiespasmódica. En el Capítulo III: se presentan los resultados y discusiones. Finalmente se presentan conclusiones, sugerencias, bibliografía y anexos.

No excluimos la posibilidad de que pueda existir algún error involuntario.



OBJETIVOS

Objetivo general

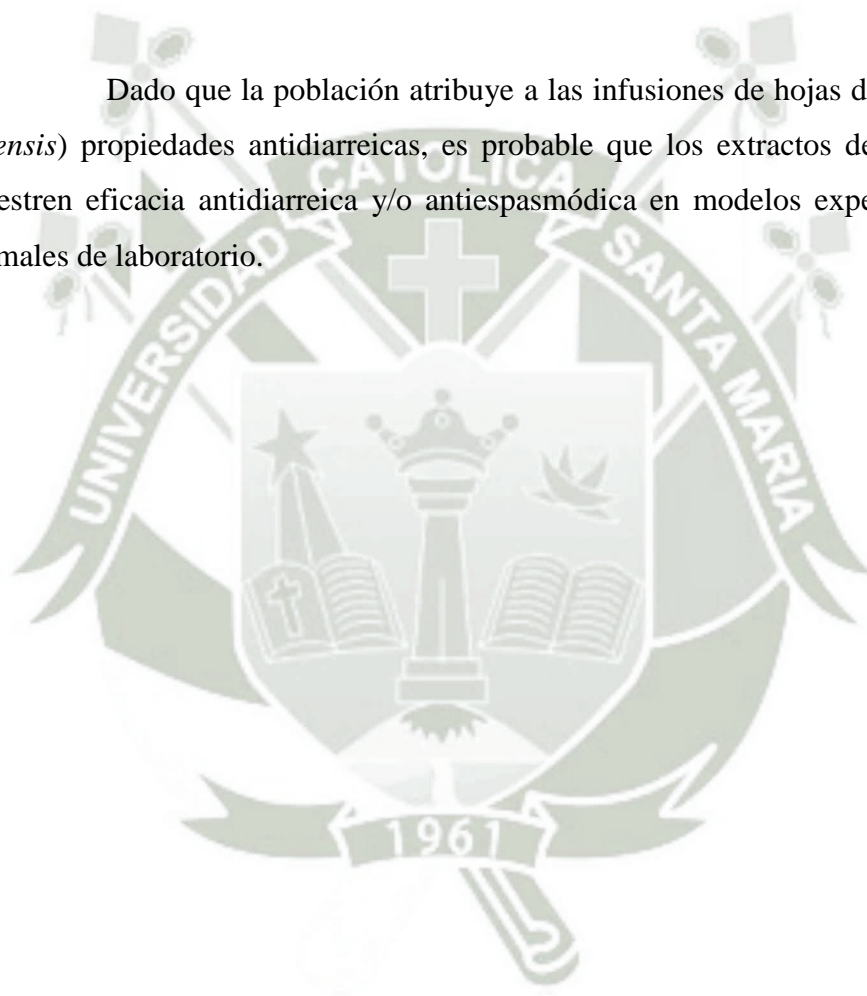
Evaluar el efecto antidiarreico y antiespasmódico de los extractos de las hojas de *Camellia sinensis* (té) en animales de experimentación.

Objetivos específicos

- ❖ Desarrollar los métodos farmacognósticos necesarios para la obtención de extractos de las hojas de *Camellia sinensis* (té).
- ❖ Establecer mediante cromatografía en capa fina la composición química preliminar de las hojas de *Camellia sinensis* (té).
- ❖ Realizar pruebas piloto para establecer la dosis del agente inductor de diarrea experimental, y la probable dosis antidiarreica del extracto de té verde.
- ❖ Evaluar la probable eficacia antidiarreica de los extractos de las hojas de *Camellia sinensis* (té) en comparación con una especialidad farmacéutica antidiarreica.
- ❖ Evaluar la actividad antiespasmódica de los extractos de las hojas de *Camellia sinensis* (té) en modelos *in vivo* e *in vitro* en animales de experimentación.

HIPÓTESIS

Dado que la población atribuye a las infusiones de hojas de té (*Camellia sinensis*) propiedades antidiarreicas, es probable que los extractos de dichas hojas muestren eficacia antidiarreica y/o antiespasmódica en modelos experimentales en animales de laboratorio.



CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. TÉ

1.1.1.Nombre científico

Thea sinensis L. Sinonimia: *Camelia sinensis* (L.) O. Kuntze ⁽²⁾

1.1.2.Nombres populares

Español: té verde

Portugués: cha verde

Inglés: green tea

Otros: théier (Francés), Schwarzer tee (Alemán), té verdi (Italiano). ⁽²⁾

1.1.3. Descripción botánica:

Se trata de un arbusto o árbol pequeño muy ramificado, perteneciente a la familia de las Teáceas, caracterizado por presentar una altura entre 1 y 2 metros (en las plantaciones), hojas alternas persistentes, oval-oblongas, cortamente pecioladas y bordes dentados en los 2/3 basales; flores axilares blanquecinas, de hasta 3 cm, provistas de 5 pétalos blancos con numerosos estambres amarillos, agrupadas de a 2-3 unidades. Fruto capsular con 2-3 semillas. ⁽²⁾

Figura N° 1: Té verde



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

1.1.4. Hábitat:

El té es originario del sudeste asiático, China e India, siendo muy cultivado en países con clima cálido y húmedo. En Sudamérica es cultivado en el sur de Brasil y región mesopotámica argentina (Misiones y Corrientes). Para lograr una

buena cosecha, las plantas no deben explotarse hasta tanto tengan entre 5 y 10 años de edad. Se conocen dos tipos principales de té: el *té negro* y el *té verde*. Conviene aclarar que no se trata de dos especies distintas, sino de diferentes procesos de elaboración del producto final, realizados en la misma especie. (*Camelia sinensis*).⁽²⁾

Fue introducido a nuestro país de Asia, los centros de cultivo son en Tingo María y en el Cuzco, siendo su distribución Amazonía alta y zonas subtropicales.⁽⁵⁾

1.1.5. Clasificación taxonómica

- División: Magnoliophyta
- Subdivisión: Angiospermas
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Theales
- Familia: Theaceae
- Género: *Camelia* L
- Especie: *Camellia sinensis* (L)

FUENTE: CONSTANCIA N° 0.6-2014-HUSA

1.1.6. Parte útil

En el caso del *té verde* las hojas no fermentadas. La droga es inodora y de sabor astringente y amargo. Vale la pena aclarar que durante el proceso de fermentado que sufre el *té negro* se producen sustancias aromáticas que le dan su apreciado aroma y sabor. Para seleccionar las mejores calidades, se recogen las porciones terminales de los retoños.⁽²⁾

1.1.7. Composición:

La hoja del té no fermentada contiene agua, materias minerales (las cenizas son ricas en K y Mn), pequeñas cantidades de ácidos orgánicos (ácidos málico, succínico, oxálico, etc.), azúcares proteínas, aminoácidos (etilamida del ácido glutámico o *teanina*), trazas de aceite esencial formados en el transcurso de la fermentación, vitaminas C y del grupo B, enzimas (mezclas de oxidasas, que catalizan la oxidación de los compuestos fenólicos e intervienen en el transcurso de la fermentación) y bases púricas, principalmente cafeína (de 2-4 % según la variedad). El contenido en cafeína y taninos disminuye con la edad de la planta.

Ácidos fenólicos abundantes (ácido cafeico y clorogénico), flavonoides (glucósidos, ramnoglucósidos y ramnodiglucósidos de flavonoides) y taninos gálicos, pero los constituyentes mayoritarios son de naturaleza flavánica: flavano-3-oles (d-l-catecol, l-epicatecol, l-epigallocatecol) y sus ésteres gálicos (galato de epigallocatecol y galato de epicatecol, 3,5-digalatos, etc).⁽⁶⁾

Las hojas sufren una serie de transformaciones tras la fermentación, durante las cuales cambian de color, se desarrolla el aroma y el sabor, se oxidan los polifenoles, que participan en el color de la infusión, y se forman benzotropolonas (teaflavina y sus ésteres, teaflagalina, etc), siendo los productos más abundantes los derivados de la oxidación y polimerización de las teaflavinas.⁽⁶⁾

Durante dicho proceso de fermentación, el ácido ascórbico desaparece, los flavonoides no se alteran y las bases púricas no se modifican.⁽⁶⁾

1.1.8. Acción farmacológica y empleo

El té, bebida tradicional en China desde hace más de 4000 años y al que se le atribuye un origen divino, apareció en Europa en el siglo XVII.

Por sus bases púricas es un estimulante del sistema nervioso central, que facilita el trabajo intelectual y físico, siendo su acción menos fuerte pero más prolongada que la del café por la presencia de derivados polifenólicos, siendo mejor

soportado que el café, aunque sea más rico en cafeína; es además un estimulante cardiorespiratorio y diurético. ⁽⁶⁾

Aunque se ha demostrado en animales que el té verde y el galatocatecol previenen la carcinogénesis experimental en animales por captar los radicales libres y bloquear la uroquinasa, enzima posiblemente implicada en la proliferación y difusión tumoral, en el hombre los resultados son contradictorios, aunque existen estudios epidemiológicos que demuestran cierta prevención en el aparición de cánceres de estómago y esófago, así como la disminución de los niveles de colesterol y triglicéridos en grandes bebedores de té, con disminución del riesgo de arterioesclerosis.

Otros usos de la hoja de té son el tratamiento sintomático de diarreas, coadyuvante en regímenes de adelgazamiento y astenias funcionales, mientras que a nivel tópico se utiliza en preparados fitoterapéuticos como coadyuvantes en regímenes de adelgazamiento y como antipruriginoso y protector en picaduras de insectos y otras alteraciones dermatológicas. ^(6, 12)

Existen diversos preparados fitoterapéuticos que contienen solo té o en mezclas con otras plantas medicinales bajo la forma de polvo, extracto fluido, tintura, extracto seco, geles y cremas, indicados en astenia psico-física, bronquitis, asma, coadyuvantes en el tratamiento del sobrepeso y arterioesclerosis e hiperlipidemias y en cremas y geles para reducir las adiposidades locales. ⁽⁶⁾

1.1.9.Efectos adversos y/o tóxicos

En dosis normales no se presentan, salvo algunos casos de estreñimiento observados en consumidores habituales. Las tomas nocturnas pueden generar insomnio debido a presencia de *cafeína*. Los efectos indeseables de la cafeína no son tan notorios como los observados con el café. La comprobación de teratogenicidad y embriotoxicidad leves descubiertas con la cafeína, sólo fueron puestas de manifiesto a partir de dosis muchísimo más altas a las usadas normalmente en los consumidores de té verde. El proceso de descafeinamiento del té verde no altera la concentración de

compuestos polifenólicos. En altas cantidades, puede incrementar la secreción ácida gástrica debido a la presencia de cafeína, lo cual ocasiona gastritis. ⁽²⁾

1.1.10. Usos etnomedicinales

La toma del té verde tiene en Oriente un sentido ceremonial más que medicinal. Entre los usos medicinales cabe señalar su empleo como tónico, hipocolesterolemizante, antiplaquetario, antioxidante, antitumoral y diurético. En aplicación tópica se recomienda en caso de conjuntivitis. Si bien las formas comerciales y medicinales más importantes hacen referencia al té verde y al té negro, en China contemplan más variedades aún. ⁽²⁾

1.2. FISIOLÓGIA GASTROINTESTINAL

1.2.1. Transporte hidroelectrolítico intestinal

El tracto gastrointestinal absorbe grandes cantidades de líquidos y electrolitos. En conjunto el intestino delgado y el grueso absorben unos 9 litros de líquido al día, una cantidad prácticamente igual que la totalidad del volumen del líquido extracelular. ^(8, 16)

En el tracto gastrointestinal hay algo más de 9 litros de líquido, representando la suma del volumen de líquido en la dieta (2 litros) más el volumen combinado de las secreciones salival, gástrico, pancreático, biliar e intestinal (7 litros). De estos 9 litros, la mayoría se absorbe en las células epiteliales del intestino delgado y el colon. El pequeño volumen restante que no se absorbe (100-200 mL) se excreta en las heces. Está claro que un trastorno en los mecanismos de absorción puede conducir a una pérdida excesiva de líquidos desde el tracto gastrointestinal (**diarrea**). El potencial de pérdida de agua corporal total y de electrolitos en la diarrea es enorme.

En el intestino delgado y el colon no solo se absorben grandes cantidades de electrolitos (Na^+ , Cl^- , HCO_3^- y K^+) y agua, sino que las células epiteliales que revisten las criptas del intestino delgado también segregan líquidos y electrolitos. Esta secreción adicional contribuye al volumen presente en el lumen intestinal, que debe absorberse a continuación. ^(8, 16)

Los mecanismos para la absorción y la secreción de los líquidos y electrolitos en el intestino constan de rutas celulares y paracelulares. La permeabilidad de las uniones herméticas entre las células epiteliales determinan si los líquidos y los electrolitos se desplazarán a través de la vía paracelular o si lo harán a través de la vía celular. Las uniones herméticas en el intestino delgado tienen “fugas” (resistencia baja) y permiten un movimiento paracelular importante, mientras que las uniones herméticas en el colon si son “herméticas” (resistencia alta” y no permiten movimiento paracelular. ^(8, 16)

1.2.1.1 Absorción intestinal

Las células epiteliales intestinales que revisten las vellosidades absorben grandes volúmenes de líquidos. El primer paso en este proceso es la absorción de solutos, seguida de la absorción de agua. El contenido absorbido (el líquido absorbido) siempre es **isosmótico**, lo que significa que la absorción de solutos y agua es proporcionada. El mecanismo de esta absorción isosmótica es similar al que se produce en el túbulo próxima renal. Los mecanismos de absorción de los solutos son diferentes en el yeyuno, el íleon y el colon. ^(8, 16)

1.2.1.1.1 Yeyuno

El yeyuno es la zona principal de absorción de Na^+ en el intestino delgado. Los mecanismos para el transporte de electrolitos en el yeyuno son idénticos a los que se producen al principio del túbulo proximal renal. El Na^+ entra en las células epiteliales del yeyuno a través de diferentes cotransportadores dependientes del Na^+ . La membrana apical contiene cotransportadores de Na^+ y monosacacáridos (Na^+ -glucosa y Na^+ -galactosa), cotransportadores de Na^+ y

aminoácidos y de intercambio de $\text{Na}^+\text{-H}^+$. Una vez que el Na^+ entra en la célula acoplado a los cotransportadores, se saca al exterior a través de la membrana basocelular por medio de la Na^+K^+ ATPasa. La fuente de H^+ para el intercambio $\text{Na}^+\text{-H}^+$ es el CO_2 intracelular y el H_2O , los cuales se convierten en H^+ y HCO_3^- en presencia de la anhidrasa carbónica. Los H^+ son segregados hacia el lumen en el intercambiador de $\text{Na}^+\text{-H}^+$ y el HCO_3^- se absorbe hacia la sangre. ^(8, 16)

1.2.1.1.2 Íleon

El íleon contiene los mismos mecanismos de transporte que el yeyuno, además de un mecanismo de intercambio de $\text{Cl}^- \text{HCO}_3^-$ en la membrana apical y un transportador de Cl^- en lugar de un transportador de HCO_3^- en la membrana basolateral. Así cuando se generan H^+ y HCO_3^- en el interior de las células epiteliales en el íleon los H^+ se segregan hacia el lumen a través del intercambiador de $\text{Na}^+\text{-H}^+$ y el HCO_3^- también se segrega hacia el lumen a través del intercambiador de $\text{Cl}^- \text{HCO}_3^-$ (en lugar de absorberse hacia la sangre, como sucede en el yeyuno). El resultado del intercambio combinado de $\text{Na}^+ \text{H}^+$ y $\text{Cl}^- \text{HCO}_3^-$ en la membrana apical es un movimiento neto de NaCl hacia el interior de la célula, que se absorbe a continuación. De este modo, hay una absorción neta de NaCl , mientras que en el yeyuno hay una absorción neta de HCO_3^- . ^(8, 16)

1.2.1.1.3 Colon

Los mecanismos celulares en el colon son similares a los de las células principales en la porción distal de los túbulos contorneados y los tubos colectores renales. La membrana apical contiene canales de Na^+ y K^+ , que son responsables de la absorción de Na^+ y de la secreción de K^+ . Al igual que las células principales renales, la síntesis de los canales del Na^+ esta inducida por la aldosterona, lo que conduce a un aumento en la absorción de Na^+ y secundariamente, a incrementos en la secreción de K^+ .

El mecanismo por el que la aldosterona incrementa la secreción de K^+ en el colon es similar al de las células principales renales: aumento en el número de canales de Na^+ , de la entrada de Na^+ a través de la membrana apical, del bombeo de

Na^+ hacia el exterior a través de la membrana basolateral gracias a la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$, del bombeo de K^+ hacia el interior de la célula y finalmente, de la secreción de K^+ a través de la membrana apical. Incluso en el colon se aprecia la dependencia de la secreción de K^+ del ritmo de flujo; por ejemplo, en la **diarrea** el ritmo de flujo elevado del líquido intestinal produce un aumento en la secreción colónica de K^+ , con lo que aumentan las pérdidas de fecales de K^+ en las heces, y por tanto, de la probabilidad de hipopotasemia. ^(8, 14)

1.2.1.2 Secreción intestinal

Las células epiteliales que revisten las criptas intestinales segregan líquidos y electrolitos (si se comparan con las células que revisten las vellosidades, que absorben líquidos y electrolitos). La membrana apical contiene Cl^- . Aparte de tener la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$, la membrana basolateral posee un cotransportador de $\text{Na}^+\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ similar al que se observa en la rama ascendente gruesa del asa de Henle. Este cotransportador de tres iones transporta Na^+ , Cl^- y K^+ al interior de las células desde la sangre. El Cl^- se mueve hacia el interior de la célula en el cotransportador de $\text{Na}^+\text{K}^+-2\text{Cl}^-$, y a continuación se difunde hacia el lumen a través de los canales de Cl^- en la membrana apical. El Na^+ sigue pasivamente a la secreción de Cl^- , moviéndose entre las células. Finalmente el agua es segregada al lumen siguiendo a la secreción de NaCl .

Los canales de Cl^- de la membrana apical suelen estar cerrados, si bien pueden estar abiertos en respuesta a la unión de diversas hormonas y neurotransmisores a receptores en la membrana basolateral. Entre las sustancias activadoras están la ACh y el PIV. El neurotransmisor o la hormona se unen al receptor basolateral, activando a la adenilciclase y generando AMPc en las células de la cripta. El AMPc abre los canales de Cl^- en la membrana apical, iniciando la secreción de Cl^- ; el Na^+ y el agua siguen al Cl^- hacia el lumen. Normalmente los electrolitos y el agua segregados por las células de las criptas intestinales son absorbidos por las células de las vellosidades intestinales. Sin embargo, en las enfermedades en las que la adenilciclase está estimulada al máximo (p.ej., cólera), la secreción de líquido por parte de las células de las criptas supera la capacidad de

absorción de las células de las vellosidades y provoca una diarrea grave, potencialmente mortal. ^(8, 14)

1.2.2.Motilidad

La regulación nerviosa de la función gastrointestinal se caracteriza por un elevado grado de autonomía. Aunque recibe influencia del sistema nervioso autónomo, presenta características muy especiales que la separan claramente de la regulación en otros órganos. Estas características son:

- La existencia de un sistema nervioso entérico (SNE) virtualmente independiente del control nervioso central.
- La existencia de gran número de neuronas intrínsecas (10^7 a 10^8).
- La enorme diversidad de tipos neuronales y de neurotransmisores, especialmente neuropéptidos.
- La frecuencia con que una misma neurona contiene dos o más cotransmisores.

De esta manera, este sistema controla la motilidad, las secreciones exocrina y endocrina, y la microcirculación del tubo digestivo, e interviene en la regulación de sus procesos inmunológicos e inflamatorios.

El SNE mantiene una clara relación y comunicación con el sistema nervioso central a través de las neuronas aferentes y eferentes del sistema simpático y parasimpático, por lo que el SNC puede regular y controlar la actividad del SNE; pero buena parte de la actividad ordinaria del aparato digestivo es realizada bajo el control casi exclusivo del SNE. ^(8, 14)

1.2.2.1 Sistema nervioso entérico

1.2.2.1.1 Disposición anatómica

El SNE (o intrínseco) consta de redes interconectadas de células ganglionares y fibras nerviosas situadas principalmente en la submucosa (plexo submucoso o de Meissner) y entre las capas musculares circular y longitudinal (plexo mientérico o de Auerbach). Estas redes emiten fibras nerviosas que conectan la mucosa y el músculo. Aunque los nervios simpáticos y parasimpáticos extrínsecos se proyectan hacia los plexos submucoso y mientérico, el SNE puede regular de manera independiente la motilidad y la secreción del tubo digestivo. Las neuronas aferentes primarias extrínsecas se proyectan a través de los ganglios de la raíz dorsal o del nervio vago hacia el SNC.

El plexo *miotérico* se extiende a todo lo largo del intestino, proporcionando inervación motora a las capas musculares longitudinal y circular e inervación secretomotora a las células de la mucosa, pero también emite sus proyecciones a los ganglios de la submucosa, a los ganglios entéricos de la vesícula biliar y al páncreas, y a los ganglios simpáticos que se encuentran en el TGI. Este plexo mientérico se encuentra también en la porción del músculo estriado del esófago donde inerva la placa motriz, valiéndose de NO como transmisor inhibitorio.

El plexo *submucoso* presenta su máximo desarrollo en el intestino delgado, donde desempeña un papel importante en el control de la secreción. Además de inervar el epitelio glandular, las neuronas inervan la *muscularis mucosae*, las células endocrinas intestinales y los vasos de la submucosa. En la vesícula, los conductos cístico y colédoco, y el páncreas existe también un plexo ganglionar similar al submucoso. ^(14, 16)

1.2.2.1.2 Neuronas del SNE

Los plexos entéricos contienen tres tipos de neuronas que, en su mayor parte, son multipolares. Las *neuronas motoras* o eferentes controlan la motilidad, la secreción y la absorción en el TGI. Actúan directamente sobre el músculo liso, las células secretoras (parietales, mucosas, pancreáticas exocrinas) y las células

endocrinas del TGI. Este tipo de neuronas a su vez pueden ser excitadoras o inhibitoras. Las de carácter excitador proyectan localmente al músculo circular, siendo sus principales neurotransmisores la ACh y la sustancia P. Las inhibitoras del músculo circular se proyectan en sentido caudal y contienen polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) y NO.

Las *neuronas sensitivas* o aferentes intrínsecas reciben información procedente de los receptores sensitivos localizados en la mucosa y el músculo, y responden a estímulos mecánicos, térmicos, osmóticos y químicos. Los quimiorreceptores son sensibles al pH, la glucosa y los aminoácidos. Los receptores sensitivos localizados en el músculo responden a los estímulos de estiramiento y tensión. Estas neuronas se distribuyen especialmente en el plexo mientérico y submucoso; todas son de naturaleza colinérgica con o sin sustancia P.

Las *interneuronas* integran la información procedente de las neuronas sensitivas y la transmiten a las neuronas motoras entéricas. Las proyecciones de las interneuronas se dirigen hacia arriba (proyección ascendente u oral) o hacia abajo (proyección descendente o anal). Forman redes polisinápticas a lo largo del intestino, constituyendo la base de la propagación de las ondas peristálticas. Son diversos los neurotransmisores que pueden poseer, pero no siempre se conoce su función fisiológica. ^(14, 16)

El reflejo peristáltico básico es el resultado de una serie de reflejos locales, cada uno de los cuales consiste en una primera contracción del músculo intestinal por encima de un estímulo intraluminal, seguida de la relajación del músculo por debajo del estímulo. El estímulo de la mucosa o la distensión mecánica de la luz intestinal hace liberar 5-hidroxitriptamina (5-HT), la cual dispara la actividad de neuronas sensitivas (aferentes intrínsecas) colinérgicas, las cuales, a su vez, estimulan a neuronas motoras excitadoras que poseen acetilcolina o sustancia P, provocando así la contracción de la capa muscular circular que está por encima del estímulo. Simultáneamente, por debajo del sitio del estímulo, las interneuronas colinérgicas descendentes activan neuronas motoras inhibitoras que contienen NO, VIP o trifosfato de adenosina (ATP) y producen relajación. El resultado de estas fuerzas es la propulsión del contenido intestinal en sentido anterógrado; conforme el bolo avanza, desencadena sucesivos reflejos. ^(14, 16)

1.2.2.1.3 Integración con el SNC

El sistema *parasimpático* se distribuye a partir de sus vías craneal – integrada por los pares craneales IX (glossofaríngeo) y X (vago)- y sacra, proveniente del plexo pélvico. El nervio glossofaríngeo inerva el esfínter esofágico inferior y se extiende hacia el intestino; el vago inerva el esófago, el intestino delgado y el colon proximal. La vía sacra inerva el colon y el recto. Los somas de las fibras vagales se encuentran en el ganglio nudoso. Las terminaciones vagales que se encuentran en las capas del músculo liso responden a estímulos de distensión mecánica y tienen umbral bajo; otras son sensibles a las concentraciones intraluminales de nutrientes (glucosa, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga) o a una gran variedad de estímulos químicos y mecánicos. Algunos de estos estímulos actúan sobre las terminaciones sensoriales vagales valiéndose de células endocrinas de la mucosa que liberan sus neurotransmisores; es el caso por ejemplo, de las células ECL que contienen 5-HT y que, bajo la influencia de estímulos químicos, liberan la 5-HT y ésta, activando un receptor 5-HT₃ situado en las terminaciones aferentes primarias vagales, emitirá estímulos que terminaran en los centros nerviosos del tronco cerebral. En general, el sistema parasimpático se encarga de estimular la secreción y motilidad del tubo digestivo, con dilatación de esfínteres y vasos sanguíneos. ^(14, 16)

El sistema *simpático* se distribuye a partir de la vía toracolumbar, atraviesa los ganglios paravertebrales y pasa a través de los nervios esplácnicos hacia los ganglios prevertebrales. Estas neuronas son de carácter nociceptivo, por lo que intervienen para transmitir los estímulos dolorosos del TGI. Son de naturaleza multimodal y responden a los estímulos de gran intensidad, tanto mecánicos como térmicos o químicos capaces de lesionar el tejido. En conjunto contribuye a la inhibición de la motilidad y secreción gastrointestinal mediante la utilización de catecolaminas como neurotransmisores.

1.2.2.1.4 Neurotransmisores del SNE

1.2.2.1.4.1 Neuroaminas

Aceitilcolina: La innervación colinérgica es abundante. Además de las aferencias extrínsecas vagales (SNA), el 50 % de las neuronas del plexo submucoso y el 20% de las del mientérico contienen ACh, a menudo en asociación con otros cotransmisores. La transmisión intraganglionar mediante PEPS rápidos es, en su mayor parte, de carácter nicotínico; a nivel efector es muscarínico. La transmisión colinérgica es modulada ampliamente, bien por influencias que llegan al soma de la neurona colinérgica, bien por aferencias que contactan presinápticamente en la terminación colinérgica, donde al parecer existen, por lo menos dos tipos de receptores: muscarínicos y adrenérgicos (principalmente α_2).

Serotonina: Es uno de los mediadores más abundantes de la pared gastrointestinal, en donde ejerce acciones decisivas sobre la motilidad y secreción gastrointestinal. Se encuentra en neuronas de ambos plexos (mientérico y submucoso) que se proyectan incluso a otras neuronas. Además se encuentra en células enterocromafines que tapizan la mucosa intestinal, las cuales la secretan en respuesta a muy diversos estímulos mecánicos y químicos: el bolo alimenticio, agonistas de diversos neurotransmisores, agentes químicos (Ej., toxinas bacterianas, fármacos citostáticos). Esta 5-HT desencadena el reflejo peristáltico al estimular neuronas sensitivas intrínsecas en el plexo mientérico (a través de receptores 5-HT₄) así como terminaciones sensoriales del vago y de neuronas sensoriales espinales (por receptores 5-HT₃). Además, la estimulación de las neuronas sensitivas intrínsecas de la submucosa activa reflejos secretomotores que favorecen la secreción.

Noradrenalina: Es fundamentalmente de origen extrínseco, se encuentran en fibras que proceden de neuronas de los ganglios simpáticos paravertebrales y terminan en la periferia de los plexos. Allí ejercen un control inhibitorio que se localiza preferentemente a nivel presináptico, por lo tanto debe actuar sobre neuronas colinérgicas y serotoninérgicas. Esta acción inhibitoria se realiza preferentemente sobre receptores α_2 .^(14, 16)

Dopamina: La acción de la dopamina en el TGI suscitó interés porque se pensó inicialmente que la acción procinética de algunos fármacos se debía al bloqueo de receptores dopaminérgicos; esta visión está superada. La dopamina exógena

produce con frecuencia inhibición de la motilidad de diversos segmentos del TGI, pero no existen neuronas dopaminérgicas en los plexos mientéricos.

1.2.2.1.4.2 Neuropéptidos y otros NTs

Sustancia P: La sustancia P y otros péptidos del mismo grupo de las taquicininas tienen carácter excitador. Se encuentran en células multipolares de los ganglios mientéricos y submucosos, con proyecciones muy cortas y circunscritas prácticamente a su propio ganglio o al más próximo.

Péptidos opiodes: Dinorfina, met-enkefalina y leu-enkefalina ejercen tres acciones neuromusculares distintas en el intestino. La primera consiste en la contracción directa de células musculares gástricas e intestinales de la capa circular. Las otras dos son de carácter neurogénico y consisten en una acción inhibitoria del tono general inhibitorio mediado por otras neuronas peptídicas, y en una acción inhibitoria sobre la liberación de acetilcolina en las terminaciones colinérgicas.

El *péptido intestinal vasoactivo* y su péptido homólogo ejercen una actividad relajadora generalizada sobre el músculo liso circular del intestino. Relajan también el estómago, la vesícula biliar y todos los esfínteres.

La *motilina* es un péptido sintetizado en células de carácter endocrino en la mucosa del intestino delgado alto; es liberada y ejerce acción endocrina al pasar a la sangre y actuar sobre receptores específicos; estimulando la motilidad del esófago, estómago, la vesícula biliar, el intestino delgado, el íleon y el colon.

El *óxido nítrico* se encuentra representado ampliamente en neuronas eferentes con función motora de carácter inhibitorio, que participan en la relajación refleja del esófago, el estómago, el intestino delgado y el colon.

La *colecistocinina* (CCK-8) provoca contracción muscular. ^(14, 16)

1.3. DIARREA

1.3.1. Definición

La diarrea se define como la evacuación fecal más frecuente de lo normal. Puede ser aguda o crónica y consecuencia de organismos infecciosos, intolerancia alimentaria, fármacos o enfermedad intestinal. En los países en vías de desarrollo, la diarrea es la causa frecuente de mortalidad entre los niños menores de 5 años de edad, con unos dos millones de muertes al año.

1.3.2. Diarrea aguda

Las causas predominantes de las diarreas agudas son los agentes infecciosos, y tienen una evolución autolimitada inferior a dos semanas. La diarrea aguda se clasifica a menudo en no inflamatoria (volumen grande) e inflamatoria (volumen pequeño), según las características de las heces. Los organismos entéricos producen diarrea por varios mecanismos. Algunos no son invasivos y no provocan inflamación, pero secretan toxinas que estimulan la secreción de líquido. Otros invaden y destruyen las células epiteliales, lo que altera el transporte de líquido de modo que la actividad secretora continúa pero la absorción no se detiene. ^(8, 16)

La *diarrea no inflamatoria* se relaciona con evacuaciones voluminosas, acuosas no sanguinolentas, cólico abdominal y náusea o vómito. A menudo es producida por bacterias productoras de toxina (p. ej., *E.coli* enterotoxígena, *S.aureus*, *Vibrio cholerae*) u otros agentes (p.ej., virus, *Giardia*) que alteran el proceso normal de absorción o secreción en el intestino delgado. El vómito intenso sugiere enteritis vírica o intoxicación alimentaria por *S.aureus*. Aunque casi siempre es leve, la diarrea que se origina en el intestino delgado puede ser voluminosa y causar deshidratación con hipotasemia y acidosis metabólica. Como no hay invasión tisular ni inflamación, no se encuentran leucocitos en las heces.

La *diarrea inflamatoria* casi siempre se caracteriza por presencia de fiebre y diarrea sanguinolenta (disentería). Se produce por invasión de las células intestinales (p.ej., *Shiguella*, *Salmonella*, *Yersinia* y *Campylobacter*) o por toxinas derivadas de las infecciones por *C.difficile* o *E.coli*. Como las infecciones causadas por estos organismos afectan sobre todo al colon, la diarrea es de bajo volumen (<1L/día) se asocia a dolor abdominal inferior y al apremio urgente de defecar. Es preciso distinguir la disentería infecciosa de la colitis ulcerosa aguda, que puede manifestarse por diarrea sanguinolenta, fiebre y dolor abdominal. En general, la diarrea que persiste durante 14 días no se debe a bacterias (salvo *C.difficile*) e indica que debe realizarse una evaluación por diarrea crónica. ⁽⁸⁾

1.3.3. Diarrea crónica

La diarrea se considera crónica, cuando los síntomas persisten 3 o 4 semanas en niños y adultos, y 4 semanas en lactantes. En muchas ocasiones la diarrea crónica se relaciona con trastornos como el síndrome del intestino irritable o enfermedad inflamatoria intestinal, trastornos por malabsorción, enfermedades endocrinas (hipertiroidismo, neuropatía autonómica diabética) o colitis por radiación. Existen cuatro causas principales de diarrea crónica: presencia de contenido hiperosmótico en la luz, aumento de la secreción intestinal, trastornos inflamatorios y procesos infecciosos. Existe un trastorno llamado *diarrea facticia* se produce por el uso indiscriminado de laxantes o por la ingestión excesiva de alimentos con efecto laxante. ⁽⁸⁾

En la *diarrea osmótica*, el agua es atraída hacia la luz intestinal por la naturaleza hiperosmótica del contenido. Se presenta cuando no se absorben partículas con actividad osmótica. En personas con deficiencia de lactasa, la lactosa de la leche no puede digerirse y absorberse. Las sales de magnesio que contiene la leche magnesio y muchos antiácidos, se absorben poco y provocan diarrea cuando se toman en cantidades suficientes. Otra causa de diarrea osmótica es el acortamiento del tránsito, que impide la absorción. La diarrea osmótica casi siempre desaparece con el ayuno.

La *diarrea secretora* se presenta cuando se intensifican los procesos secretores del intestino. También se observa cuando hay un exceso de sales biliares en el contenido intestinal que entra en el colon. Esto sucede con frecuencia en procesos patológicos del íleon porque es donde se absorben las sales biliares. También puede presentarse si hay un crecimiento bacteriano excesivo en el intestino delgado, que interfiere con la absorción de la bilis. Algunos tumores, como los del síndrome de Zollinger-Ellison y el síndrome carcinoide, secretan hormonas que aumentan la actividad secretora del intestino. ⁽⁸⁾

La *diarrea inflamatoria* se relaciona muchas veces con inflamación aguda o crónica, o con una enfermedad intrínseca del colon como la colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn. La diarrea inflamatoria suele manifestarse por la frecuencia, urgencia y dolor abdominal cólico. Suele ir acompañada de tenesmo, manchado fecal de la ropa y urgencia para defecar por la noche que despierta al paciente. ⁽⁸⁾

Las infecciones parasitarias crónicas pueden ocasionar diarrea crónica por varios mecanismos. Los patógenos más vinculados con la diarrea crónica incluyen los protozoos *Entamoeba histolytica*, *Giardia* y *Cyclospora*. Los pacientes inmunodeprimidos son muy susceptibles a organismos como *Cryptosporidia*, citomegalovirus y el complejo *Mycobacterium avium intracellulare*, que pueden causar diarrea aguda y crónica. ⁽⁸⁾

1.3.4. Diagnóstico y tratamiento

El diagnóstico de la diarrea se basa en las quejas sobre evacuaciones frecuentes y los antecedentes de factores acompañantes, como enfermedades concomitantes, uso de medicamentos y exposición a patógenos intestinales potenciales. Deben considerarse trastornos como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. Si el inicio de la diarrea se vincula con un viaje al extranjero, debe considerarse la posibilidad de diarrea del viajero. ⁽⁸⁾

Aunque la mayor parte de las formas agudas de diarrea se autolimita y no exige tratamiento, la diarrea puede ser muy grave en lactantes y niños pequeños, en individuos con otras enfermedades y en ancianos. Por lo tanto, la reposición de

líquidos y electrolitos se considera un objetivo terapéutico primario en caso de diarrea. El tratamiento de reposición oral (TRO) puede iniciarse en situaciones de diarrea no complicada que se tratan en casa. El TRO se aplicó por primera vez en el tratamiento de la diarrea en países en vías de desarrollo y puede considerarse un caso de tecnología inversa, en el cual los protocolos implementados al principio en estos países han cambiado las prácticas sanitarias en países industrializados. Las soluciones completas para TRO contienen carbohidrato, sodio, potasio, cloro y bases para reponer las pérdidas por la diarrea. No se recomiendan las bebidas como el zumo de manzana o los refrescos de cola, que tienen una osmolaridad elevada debido a su alto contenido en hidratos de carbono y baja cantidad de electrolitos. La efectividad de la TRO se basa en el transporte acoplado de sodio y glucosa y otras moléculas orgánicas pequeñas transportadoras de forma activa. El TRO puede ser muy efectivo en el tratamiento de la deshidratación relacionada con enfermedades diarreicas en lactantes y niños pequeños. Los niños con deshidratación grave y cambios en los signos vitales o del estado mental requieren reanimación urgente con soluciones intravenosas. Después del tratamiento inicial con líquidos intravenosos, estos niños pueden recibir el tratamiento de reposición oral. ⁽⁸⁾

La evidencia sugiere que la alimentación debe continuar durante la enfermedad diarreica, sobre todo en niños. El almidón y las proteínas simples son moléculas para el cotransporte con poca actividad osmótica que incrementan la captación de líquido y electrolitos en las células intestinales. El contenido luminal procedente de la realimentación temprana también contiene factor de crecimiento para los enterocitos y facilita la reparación después de la lesión. Se recomienda que los niños que necesitan rehidratación a causa de diarrea se alimenten con una dieta apropiada para su edad. Aunque no existe un acuerdo sobre que alimentos son mejores, es preferible evitar los productos grasosos y los ricos en azúcares simples. Casi todos los lactantes con gastroenteritis aguda toleran la leche materna. Para los que son alimentados con fórmula, la preparación diluida de esta no representa ninguna ventaja en comparación con la fórmula de concentración normal. ⁽⁸⁾

Los fármacos administrados en el tratamiento de la diarrea incluyen difenoxilato y loperamida, que son opiáceos. Estos compuestos disminuyen la motilidad gastrointestinal y estimulan la absorción de agua y electrolitos. Los

absorbentes como el caolín y la pectina, adsorben irritantes y toxinas en el intestino. Estos componentes se incluyen en muchas preparaciones antidiarreicas disponibles sin receta porque adsorben las toxinas causantes de ciertos tipos de diarrea. Los fármacos antidiarreicos no deben emplearse en sujetos con diarrea sanguinolenta, fiebre alta o signos de toxicidad por el riesgo de agravar la enfermedad. Los antibióticos deben reservarse para pacientes con patógenos entéricos identificados.

1.4. ANTIESPASMÓDICOS

Los antiespasmódicos son un grupo de sustancias que previenen o interrumpen la contracción dolorosa e involuntaria (espasmo) del músculo liso intestinal, uno de los mecanismos referidos en la génesis del dolor en patologías gastrointestinales.

Los antiespasmódicos se clasifican en varios grupos, de acuerdo con su mecanismo de acción:

- a) agentes relajantes directos del músculo liso (mebeverina, agentes derivados de papaverina),
- b) anticolinérgicos (butilhioscina, hioscina, hiosciamina, levocina, dicitcloverina, butilescopolamina, trimebutina y bromuro de cimetropio), y
- c) agentes bloqueadores de los canales del calcio (bromuro de pinaverio, bromuro de otilonio, alverina, fenoverina, rociverina y pirenzepina).

Los relajantes directos del músculo liso actúan sobre las miofibrillas del músculo liso del aparato digestivo, reducen el tono y el peristaltismo, y alivian los espasmos intestinales sin afectar de forma sustancial a la motilidad gastrointestinal. Los efectos secundarios de esta clase de medicamentos son muy raros e incluyen cefalea y mareo.

Los antiespasmódicos anticolinérgicos atenúan los espasmos o contracciones en el intestino y, por tanto, tienen el potencial de reducir el dolor abdominal. Los efectos secundarios más comunes de los anticolinérgicos son cefalea, mareo, visión borrosa, disuria, disminución de la sudación, exantema y xerostomía.

Debido a ello, en Estados Unidos algunos anticolinérgicos se emplean en combinación con clordiazepóxido para disminuir los efectos secundarios.

Por último, los antagonistas del calcio relajan el intestino al prevenir la entrada de éste en las células del músculo liso intestinal. Dado que el calcio desencadena la cascada de sucesos que activa la contracción muscular, su inhibición en las células causa relajación intestinal. Este grupo de medicamentos, al reducir el índice de motilidad, puede disminuir el reflejo gastrocólico y modificar el tiempo de tránsito colónico. Las reacciones secundarias de los antagonistas del calcio como clase pueden incluir náusea, exantema, diarrea y xerostomía. En el caso de lafenoverina, se han descrito casos de miositis y rabdomiólisis con insuficiencia renal secundaria. Las evidencias respecto al papel de los antiespasmódicos en el tratamiento de dispepsia funcional (DF) son muy limitadas y la mayoría de las publicaciones están dirigidas al tratamiento de pacientes en los que hay superposición de síndrome de intestino irritable (SII) y DF. Evidencia clínica de antiespasmódicos en el SII y DF Se han publicado diferentes revisiones y metaanálisis que intentan establecer la utilidad de los antiespasmódicos en trastornos funcionales digestivos con resultados controvertidos.

1.5. LOPERAMIDA

1.5.1. Propiedades farmacológicas

Es un derivado sintético de la piperidina. Reduce la motilidad intestinal por efecto directo sobre las terminaciones nerviosas o los ganglios intramurales. Puede ejercer su acción antidiarreica no sólo mediante el retraso del tránsito intestinal y el aumento del tiempo de contacto, sino también por inhibición directa de la secreción de líquidos y electrolitos o la estimulación de absorción de sal y de agua. No se absorbe bien en el tracto gastrointestinal; su unión a las proteínas es elevada (97 %) y se elimina por vía fecal/renal. ^(17, 20, 21)

1.5.2.Mecanismo de acción

La acción gastrointestinal es consecuencia de la activación preferente de receptores opioides μ y δ , esta interacción desencadena una acción inhibitora que se manifiesta a lo largo del tubo digestivo. A nivel gastroduodenal, aumentan el tono y reducen la motilidad en la porción antral y pilórica del estómago, y aumentan el tono de la primera porción del duodeno; en consecuencia, provocan un retraso en el vaciado gástrico. En el intestino delgado y el colon, aumentan el tono y las contracciones no propulsivas y disminuyen la peristalsis propulsiva. Al disminuir el avance de la masa fecal, aumenta el tiempo de contacto con la mucosa y la reabsorción de agua, lo que endurece el contenido y dificulta su avance.

1.5.3.Indicaciones.

Diarrea aguda no específica y diarrea crónica asociada con enfermedad intestinal inflamatoria. (17, 20, 21)

1.5.4.Dosificación.

Diarrea aguda: adultos: 4 mg, seguidos de 2 mg después de cada defecación no bien conformada; niños de 2 a 5 años: 1 mg 3 veces al día; de 5 a 8 años: 2 mg dos veces al día; de 8 a 12 años: 2mg tres veces al día. Diarrea crónica: adultos: dosis inicial 4mg; dosis de mantenimiento 4mg a 8mg al día en varias tomas, según necesidades; dosis máxima 16 mg/día. (17, 20, 21)

1.5.5.Reacciones adversas.

Distensión abdominal, constipación, somnolencia, anorexia, náuseas, vómitos, fiebre, mareos, rash cutáneo (reacción alérgica).

1.5.6. Precauciones y advertencias.

En los pacientes con colitis ulcerosa se debe suspender de inmediato el tratamiento con loperamida, ante la aparición de distensión abdominal u otros síntomas que pudieren indicar megacolon tóxico inminente. En la diarrea aguda se debe suspender el tratamiento con loperamida después de 48 horas si no se produce mejoría, y en la diarrea crónica si no se produce con al menos 10 días de tratamiento con la dosis máxima. En lactantes y niños menores de 3 años se recomienda tener precaución debido al riesgo de pérdida de líquidos y electrolitos, lo mismo que en los ancianos.

1.5.7. Interacciones.

El uso simultáneo de loperamida con un analgésico opiáceo puede aumentar el riesgo de constipación severa. ^(17, 20, 21)

1.5.8. Contraindicaciones.

Colitis severa, diarrea asociada con colitis pseudomembranosa resultante del tratamiento con antibióticos de espectro amplio. La relación riesgo-beneficio debe evaluarse en cuadros de deshidratación, diarrea producida por organismos infecciosos o disfunción hepática. ^(17, 20, 21)

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. CAMPO DE INVESTIGACIÓN

2.1.1. Unidades de estudio

Para realizar el presente trabajo de investigación se utilizaron como muestra hojas de té verde que la población habitualmente consume, siendo recolectada, del distrito de Huayopata en la zona denominada Huyro – Cusco.

2.1.2. Ámbito geográfico y temporalidad

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Farmacognosia ubicado en el pabellón H-102, el bioterio, en las instalaciones de la Universidad Católica Santa María y el laboratorio de Biología de la Universidad Nacional de San Agustín en la ciudad de Arequipa - Perú, durante los meses de febrero a junio de 2014.

2.2. MATERIALES

2.2.1. Unidad animal

Se utilizaron ratas de laboratorio pertenecientes a la especie Wistar Novergicus todas del sexo masculino entre 2 a 4 meses de edad.

2.2.2. Unidad farmacológica

Como control positivo se utilizó loperamida, la que se adquirió como forma farmacéutica cuyas características de fabricación fueron las siguientes:

- Laboratorio: Labofar
- Concentración: 2 mg
- Forma farmacéutica: tableta
- Registro sanitario: N-25376
- Lote: 1064354
- Fecha de vencimiento: 06-2016

2.2.3. Materiales de laboratorio

2.2.3.1 Material de vidrio

- Frascos
- Matraz Erlenmeyer de 50 ml, 150 ml, 250 ml
- Fiolas
- Cuba cromatográfica
- Varillas de vidrio
- Probetas graduadas de 10 ml, 20 ml

- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitados de 50 ml, 100 ml y 150 ml
- Pipetas graduadas de 1 ml, 2 ml, 5ml, 10 ml
- Tubos capilares

2.2.3.2 Reactivos

- Acetato de etilo
- Aceite de ricino
- Carbón activado
- Ácido acético (99,9 0%)
- Ácido fórmico (98 %)
- Ácido sulfúrico (95-97 %)
- Tolueno
- Yoduro de potasio
- Etanol al 96 %
- Cloruro de aluminio
- Reactivo de vainillina sulfúrica
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Lieberman-Bouchard
- Solución de cloruro férrico
- Metanol (99,96 %)
- Solución de Tyrode

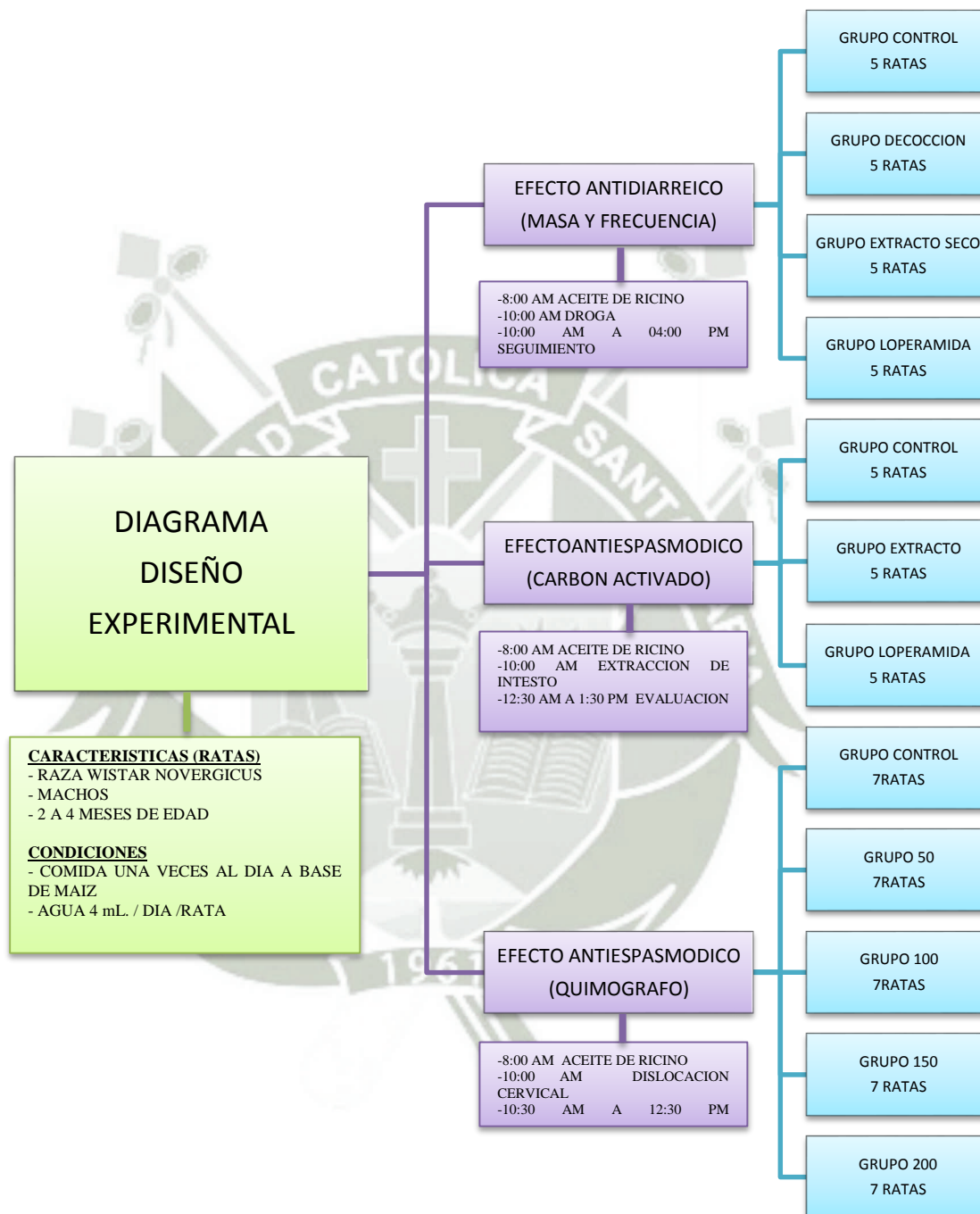
2.2.3.3 Equipos de laboratorio

- Balanza analítica
- Estufa
- Desecador
- Lámpara UV
- Rotavapor
- Equipo Soxhlet
- Quimógrafo

2.2.3.4 Otros

- Atomizador
- Guantes quirúrgicos
- Plumón marcador
- Pizeta
- Sonda orogástrica
- Tripode
- Malla de Asbesto
- Papel filtro
- Gradilla para tubos de ensayo
- Tijeras
- Pinzas
- Bisturí
- Calentador
- Mortero

Diagrama del diseño experimental



2.3. MÉTODOS

2.3.1. Obtención del material vegetal

El material vegetal se recolectó en la ciudad del Cusco, específicamente en el distrito de Huayopata, en la zona denominada Huyro cuyos aspectos geográficos se detallan a continuación:

2.3.1.1 Ubicación

El distrito de Huayopata se ubica al Sur Este de la provincia de la Convención, siendo este distrito, la puerta de entrada a la majestuosa provincia de la Convención, que representa el 42% del territorio de la región Cusco.

Huayopata se caracteriza por presentar diversos pisos ecológicos con microclimas que favorecen el desarrollo de la agricultura diversificada, es así, que el Distrito de Huayopata se ha convertido en el primer productor del Té en el mercado nacional, con una calidad reconocida a nivel internacional.

El distrito de Huayopata es uno de los mayores productores de té en el Perú. Dicha producción se realiza en forma tradicional, es decir, utilizando sólo métodos manuales de cosecha, seleccionando especialmente las hojas más frescas y tiernas; que luego del procesamiento se obtiene el famoso Té Huyro de alta calidad muy apreciado en el mercado Nacional e Internacional.

Coordenadas: 13°00'27"S 72°33'25"O

Posteriormente se seleccionaron las hojas y se procedió a la estabilización y desecación del material vegetal. El primer proceso se llevó a cabo a 100 °C durante 2 minutos, luego se siguió con la desecación en estufa a una temperatura de 50 °C. El tiempo de desecación fue de 4 horas.

Figura N° 2: Pesado de Té verde



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Figura N° 3: Estabilización y desecación



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.3.2. Trituración del material vegetal

Para aumentar la superficie de contacto entre el material vegetal y los disolventes a utilizar se procedió a la trituración utilizando para este fin un mortero de porcelana, siendo la trituración manual.

Figura N° 4: Trituración

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.3.3. Obtención de los extractos

2.3.3.1 Método de decocción

Descripción del método

La decocción es un método de extracción con disolventes tipo discontinuo. Para realizarla se pone en contacto la droga con el disolvente (agua) y el conjunto se lleva hasta la temperatura de ebullición, manteniendo dicha ebullición durante 5-15 minutos. Una vez enfriado, se filtra y se exprime el residuo. El tiempo de decocción depende de las características de la droga; es menor para drogas vegetales blandas (hojas, flores, etc.) y mayor para drogas vegetales duras (corteza, semillas, etc.).

El tiempo de decocción también depende de los principios activos que se desee extraer.

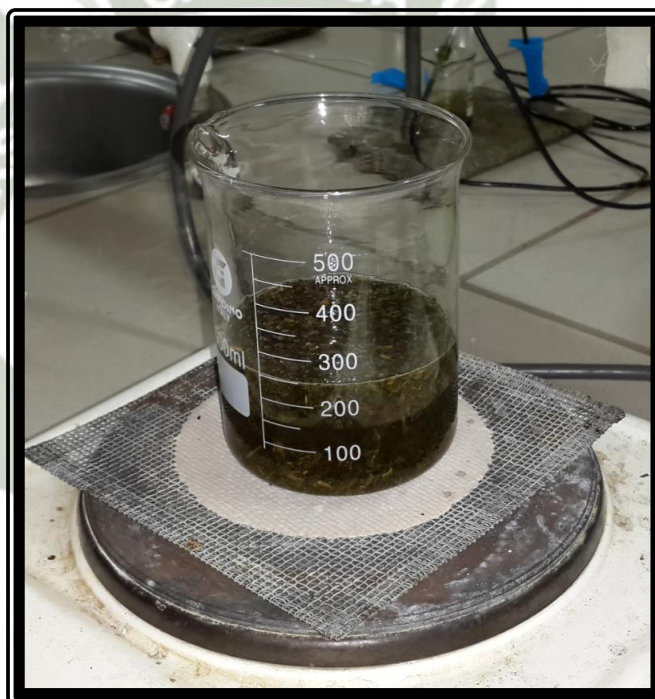
La decocción se aplica generalmente a material vegetal duro en las que resulta difícil el contacto entre los principios activos y el disolvente debido a las características histológicas y a drogas vegetales con principios activos difíciles de

disolver que precisan una temperatura elevada y un tiempo prolongado para su disolución.

Procedimiento realizado para la decocción

En un vaso de precipitados se colocaron 5 gr de hojas de té verde con un grado de trituración grueso. Posteriormente se añadió 100 mL de agua destilada. Esta mezcla se llevó a ebullición y se dejó ebullicir durante 5 minutos, luego del cual se procedió a extraer todo el decocto mediante expresión del material vegetal con la ayuda de un estropajo limpio a manera de filtro.

Figura N° 5: Decocción



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.3.3.2 Método de Soxhlet

Descripción del método

Soxhlet es la técnica más antigua para la extracción de compuestos orgánicos en matrices sólidas. Desarrollada en 1879, sigue siendo hoy en día una

técnica aceptada por la Agencia de Protección Medioambiental (EPA), como el método 354 C, y usada como procedimiento de referencia con respecto al que se validan otras técnicas más actuales.

La extracción exhaustiva de componentes orgánicos en un sistema Soxhlet se lleva a cabo usando un disolvente orgánico, el cual refluye a través de la muestra contenida en un dedal poroso. Las ventajas más importantes de la extracción Soxhlet son el contacto continuo de la muestra con una porción fresca de disolvente, simplicidad, bajo coste de adquisición y la posibilidad de procesar grandes cantidades de muestra. Dentro de sus limitaciones, nos encontramos el tiempo necesario para la extracción y la capacidad del equipo.

Procedimiento realizado para el extracto seco

Se colocaron 10 gr en el tubo de extracción y se añadió 150 mL de alcohol etílico en el balón de destilación, se armó el equipo y se procedió a proceso de extracción, se requirieron 10 “vueltas” del disolvente para agotar la droga, posteriormente se procedió a la concentración del extracto mediante el uso del rotavapor.

Figura N° 6: Extracción Soxhlet



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.3.4. Identificación fitoquímica preliminar

2.3.4.1 Cromatografía en capa delgada

Descripción del método

La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa, uniforme de un absorbente mantenido sobre una placa, la cual puede ser de vidrio, aluminio u otro soporte. La fase móvil es líquida y la fase estacionaria consiste en un sólido. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares. ⁽²⁹⁾

La mezcla a analizar se deposita a una pequeña distancia del borde inferior de la placa y se introduce en una cubeta que contiene la fase móvil, que asciende a lo largo de la placa por capilaridad, desplazando a los componentes de la mezcla a diferentes velocidades, lo que provoca su separación. Cuando el frente del disolvente se encuentra próximo al extremo superior de la placa esta se saca y se visualiza.

La relación entre la distancia recorrida por un compuesto y por el disolvente desde el origen se conoce como R_f (rate factor). ⁽²⁹⁾

La retención se puede explicar en base a la competencia que se establece entre el soluto a separar y la fase móvil por adsorberse a los centros activos polares de la fase estacionaria. Así, las moléculas de soluto se encuentran adsorbidas en la fase estacionaria y a medida que se produce la elución van siendo desplazadas por la fase móvil. La retención y la selectividad en la separación dependen de los valores respectivos de las constantes de los diferentes equilibrios químicos que tienen lugar, que están en función de: ⁽²⁹⁾

- La polaridad del compuesto, determinada por el número y naturaleza de los grupos funcionales presentes. Los solutos más polares quedarán más retenidos puesto que se adsorben más firmemente a los centros activos de

la fase estacionaria, mientras que los no polares se eluirán con mayor facilidad.

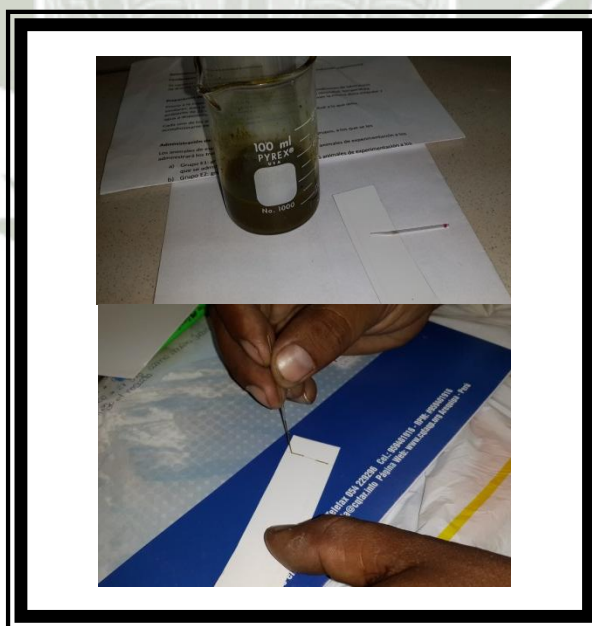
- Naturaleza del disolvente. Así, para un mismo compuesto, un aumento en la polaridad del disolvente facilita su desplazamiento en la placa.

La relación entre las distancias recorridas por el soluto y por el eluyente desde el origen de la placa se conoce como R_f , y tiene un valor constante para cada compuesto en unas condiciones cromatográficas determinadas (adsorbente, disolvente, tamaño de la cubeta, temperatura, etc.). Debido a que es prácticamente imposible reproducir exactamente las condiciones experimentales, la comparación de una muestra con otra debe realizarse eluyendo ambas en la misma placa. ⁽²⁹⁾

Procedimiento realizado

Para la determinación fitoquímica preliminar se utilizó placas de sílica gel de 10 por 3 cm. Se delimitó la línea de siembra y el frente del disolvente. Para la siembra se utilizó un capilar. Como analito se empleó el extracto que se obtuvo mediante el método continuo con el equipo Soxhlet.

Figura N° 7: Cromatografía de Capa Delgada



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Figura N° 8: Desplazamiento y revelado de placas



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.3.5. Evaluación de la actividad antidiarreica del té

2.3.5.1 Fase de estandarización y acondicionamiento de los animales

Antes de iniciar la experimentación todos los animales fueron sometidos a las mismas condiciones de experimentación, recibiendo la misma cantidad y calidad de alimentos, así como agua a disposición.

Los animales se mantuvieron en jaulas debidamente preparadas, con una bandeja de plástico con papel bond en la parte inferior. Todas estas condiciones se mantuvieron constantes durante todo el periodo de estudio.

2.3.5.2 Fase de inducción de diarrea con aceite de ricino

Para la inducción de la diarrea se siguió el método descrito por Shoba y Thomas, para ello todos los animales fueron sometidos previamente a la administración mediante cánula orogástrica de una dosis de 1 mL de aceite de ricino. Se eligieron para la experimentación aquellos animales cuyas deposiciones eran

distintas a las normales. Para el análisis se determinó el número de deposiciones antes y después de la administración del agente inductor.

2.3.5.3 Fase de evaluación de la actividad antidiarreica

Luego de determinar los animales que son sensibles a la administración de la dosis de aceite de ricino, se procedió a la evaluación de la actividad antidiarreica, para ellos se forman los grupos conforme a la experimentación, y se administran las dosis respectivas y luego de una hora (60 minutos) se administró el agente inductor (aceite de ricino). Se observaron los siguientes parámetros durante las 8 horas siguientes a esta última administración: Tiempo transcurrido entre la administración del aceite de ricino y la excreción de las primeras heces diarreicas (heces líquidas o semilíquidas que dejan un halo de humedad en el papel bond), la frecuencia de heces líquidas o semilíquidas y la masa o peso total de las heces.

2.3.5.4 Evaluación piloto

La evaluación piloto tuvo como finalidad determinar la dosis de extracto seco de té, se determinó mediante la medición de la masa y frecuencia de deposiciones frente a un grupo control en animales de experimentación a quienes se les indujo diarrea mediante la administración de aceite de ricino (*supra* 2.5.3.2.), estos animales fueron distribuidos en los siguientes grupos:

- **Grupo tratamiento 1:** Constituido por 5 ratas machos las cuales recibieron una dosis de 500mg/Kg de extracto seco de té verde administrada a través de una cánula orogástrica.
- **Grupo tratamiento 2:** Constituido por 5 ratas macho las cuales recibieron una dosis de 1000mg/Kg de extracto seco de té verde administrado a través de una cánula orogástrica.
- **Grupo control:** Constituido por 5 ratas macho las cuales recibieron una dosis de 5ml de cloruro de sodio administrado a través de una cánula orogástrica.

2.3.5.5 Evaluación final

La evaluación final se realizó con la dosis hallada tras la evaluación piloto, en esta fase de la investigación se consideró además al grupo cuyo tratamiento fue la decocción del té verde y el grupo farmacológico, a continuación se detallan los grupos de tratamiento:

- **Grupo extracto seco:** Constituido por 5 ratas machos las cuales recibieron una dosis de 1000mg/Kg de extracto seco de té verde extraído mediante el equipo soxhlet, administrada a través de una cánula orogástrica.
- **Grupo extracto acuoso (Decocto):** Constituido por 5 ratas macho las cuales recibieron una dosis 5ml de extracto acuoso de té verde, extraído mediante decocción y administrado a través de una cánula orogástrica.
- **Grupo farmacológico:** Constituido por 5 ratas machos las cuales recibieron una dosis de 2mg/Kg de loperamida administrado a través de una cánula orogástrica.
- **Grupo control:** Constituido por 5 ratas macho las cuales recibieron una dosis de 5ml de suero fisiológico (cloruro de sodio al 0,9%), administrado a través de una cánula orogástrica.

2.3.6. Evaluación de la actividad antiespasmódica del té

Para la evaluación de la actividad del té verde se utilizó dos métodos experimentales el primero es el que mide el tránsito intestinal utilizando una sustancia marcadora y el segundo el que mide las contracciones intestinales utilizando el quimógrafo. En ambos casos se utilizó el extracto obtenido mediante equipo Soxhlet, debido a que es el que presentó mayor actividad antidiarreica.

2.3.6.1 Evaluación del tránsito intestinal

2.3.6.1.1 Método

Se utilizó como método el de Arbos et al. Que consisten en la privación de alimentos previos a la experimentación, luego administrar los tratamientos experimentales sucedidos de la administración de una suspensión de carbón activado al 5%.

2.3.6.1.2 Preparación de los tratamientos

Se preparó los tratamientos consistentes en el extracto de té verde obtenido mediante equipo Soxhlet a una dosis de 1000 mg/Kg, disueltos en 5 mL de agua destilada.

La sustancia marcadora fue el carbón activado, con la que primero se trituró a polvo fino, luego se preparó una suspensión al 10 % con suero fisiológico.

2.3.6.1.3 Tratamiento de los animales

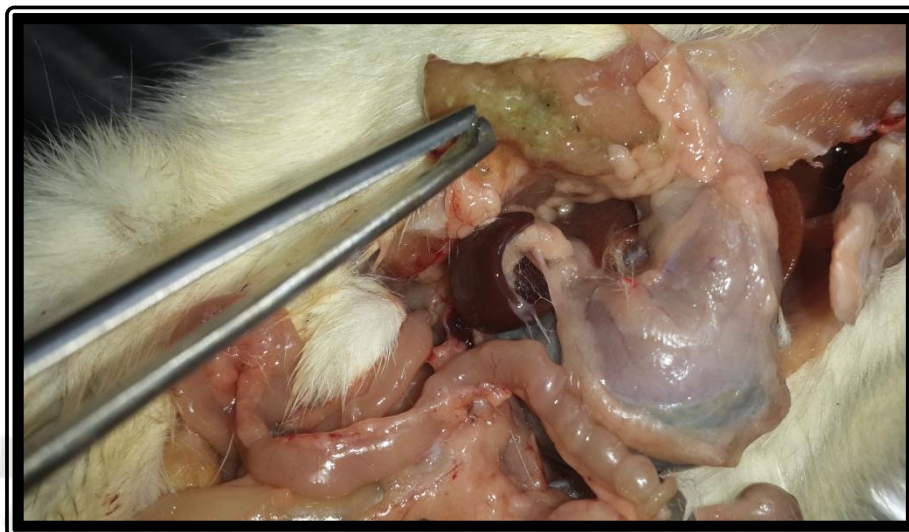
Se trabajó con 15 animales de experimentación (ratas de laboratorio), todos ellos pertenecientes a la fase de evaluación antidiarreica, por lo que se esperó un periodo de 15 días luego de culminar dicha fase e iniciar la presente. Doce horas antes de iniciar la experimentación los animales se sometieron a ayuno disponiendo solo de agua para beber.

Luego a todos ellos se les administró sus respectivos tratamientos, consistente en extracto de té verde, loperamida y suero fisiológico para el grupo control. Al cabo de una hora se les administró a todos ellos la suspensión de carbón activado. A la media hora de administrado la sustancia marcadora se sacrificó los animales mediante dislocación cervical. Se practicó una incisión en el abdomen con la finalidad de realizar una enterectomía completa.

El intestino delgado completo fue retirado y colocado sobre una cartulina blanca, se procedió a la medición de su longitud. Posteriormente se abrió el intestino para observar hasta que distancia avanzó el carbón activado. Hallada esta última

dimensión se calculó el porcentaje del tránsito intestinal, que relaciona la distancia recorrida por el carbón entre la longitud total del intestino por 100.

Figura N° 8: Enterectomía.



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.3.6.2 Evaluación del número de contracciones

2.3.6.2.1 Disolución del extracto

Para la evaluación antiespasmódica según este método en primer lugar se procede a pesar 10 mg de extracto de té verde y se afora con solución de Tyrode en una fiola de 10 mL. Con esta solución se logra una concentración igual a 1 mg/mL.

Al vaso con 20 mL de solución que contiene el órgano se añade posteriormente volúmenes de la solución anterior de 1, 2, 3 y 4 mL lográndose de este modo concentraciones de 50, 100, 150 y 200 $\mu\text{g/mL}$ de extracto respectivamente.

2.3.6.2.2 Tratamiento de los animales

Se trabajó con 35 animales de experimentación, en grupos de 7 animales, la mayoría de ellos son pertenecientes a los utilizados en la etapa de actividad

antidiarreica, por lo que al igual que el método anterior se esperó por un periodo de 15 días para iniciar la presente evaluación. Durante este periodo fueron alimentados en condiciones similares de alimento y bebida. Luego de administrarles el agente inductor se esperó 2 horas para proceder con la experimentación, siendo sacrificados mediante dislocación cervical.

Posteriormente se practicó una incisión profunda en el abdomen, con la finalidad de realizar una enterectomía, extrayéndose una porción de 30 cm del íleon. De esta porción de órgano, se prepararon segmentos de 5 cm de longitud. La totalidad de animales y sus intestinos permitieron obtener 35 segmentos de intestino los que fueron divididos en cinco grupos (control, grupo 50, grupo 100, grupo 150 y grupo 200) es decir, siete segmentos por grupo.

Cada segmento fue depositado en los vasos con la solución de Tyrode, cada uno conteniendo las concentraciones de extracto antes indicada. Cada porción del intestino se colocó en el quimógrafo, para evaluar el número de contracciones.

Se observa las lecturas en el tambor y se ve según los movimientos de esta el número de contracciones. Durante todo este procedimiento el vaso se mantiene en baño maría controlando la temperatura a 37 °C.

Figura N° 9: Enterectomía.



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Figura N° 10: Lectura del Quimiografo



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.3.7. Métodos estadísticos

2.3.7.1 Parámetros de tendencia central y dispersión.

Se utilizó la mediana, varianza, promedio, desviación estándar, máximos y mínimos. ⁽³⁾

2.3.7.2 Análisis de varianza

Se empleo:

- ANOVA.
- Prueba de TUKEY. ⁽³⁾

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

Los extractos que se obtuvieron fueron un decocto y un extracto seco, ambos mediante métodos que utilizan disolventes, para el primero se utilizó el método discontinuo denominado decocción, y para el segundo el método continuo mediante equipo de destilación Soxhlet.

La decocción se realizó con agua destilada, a partir de 30 gramos de te, la extracción continua se utilizó como disolvente alcohol etílico, utilizándose para esta extracción 10 gramos de droga. En ambos casos se utilizó un disolvente polar, debido a que la población utiliza infusiones con agua de grifo, y es a esta infusión a la que acusan de efectos antidiarreicos.

Ambos extractos a diferencia del té negro presentaron un ligero olor aromático característico a té, con una coloración pardo rojiza intensa.

Debido a la naturaleza y el método utilizado para el extracto seco, se halló el rendimiento del mismo. Para verificar la homogeneidad y repetibilidad de los resultados se practicaron tres extracciones en el equipo Soxhlet.

Cuadro N°1

Rendimiento de las extracciones

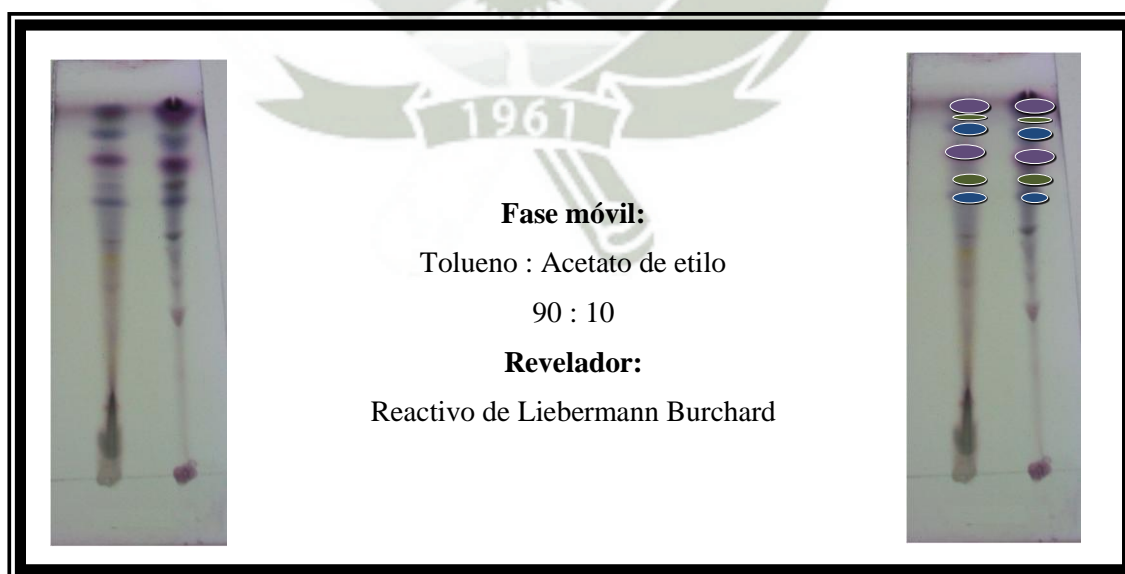
Extracciones	1 extracción	2 extracción	3ra extracción
Total de droga	10 g	10 g	10 g
Peso del extracto	1.25 g	1.06g	1.12 g
Rendimiento	12.5 %	10.6 %	11.2 %
Promedio	11.43%		

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

3.2. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

3.2.1. Determinación de terpenos

Figura N° 11: Cromatofolios para reconocimiento de Terpenos



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Como se puede observar en los cromatofolios para el reconocimiento de terpenos, tras el revelado con el Reactivo de Liebermann Burchard se detecta la presencia de sustancias terpénicas, debido a la presencia de manchas púrpuras, azules y verdes. ⁽²⁷⁾

3.2.2. Determinación de taninos.

Figura N° 12: Cromatofolios para reconocimiento de Taninos



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Como se puede observar en los cromatofolios para el reconocimiento de taninos, tras el revelado con el Reactivo de Cloruro férrico en solución alcohólica se detecta la presencia de taninos, debido a la presencia de manchas azules oscuras. ⁽²⁷⁾

3.3. ACTIVIDAD ANTIDIARREICA

La actividad antidiarreica del té, requirió 20 animales de experimentación. De este total de animales se eligieron al azar 5 con la finalidad de administrar el aceite de ricino a una dosis de 2 mL, y verificar si existe efecto laxante tal como lo señala la bibliografía.

Previamente los animales se mantuvieron en condiciones estándares 15 días antes de la administración del aceite de ricino, se mantuvieron en sus jaulas de cautiverio en forma individual, se les dio alimento y bebida a disposición.

Luego se prepararon jaulas metabolizadoras a las que se les acondicionó una bandeja de plástico en el piso de la jaula, y papel absorbente (papel bond), ambos secos y con pesos conocidos; ello con la finalidad de hallar el peso exacto de las heces.

Considerando el periodo de latencia del aceite de ricino se observó las deposiciones en cuanto frecuencia y masa antes y después de dar aceite de ricino, a continuación los resultados:

Cuadro N° 2

Masa y Frecuencia de deposiciones antes y después de administrar aceite de ricino

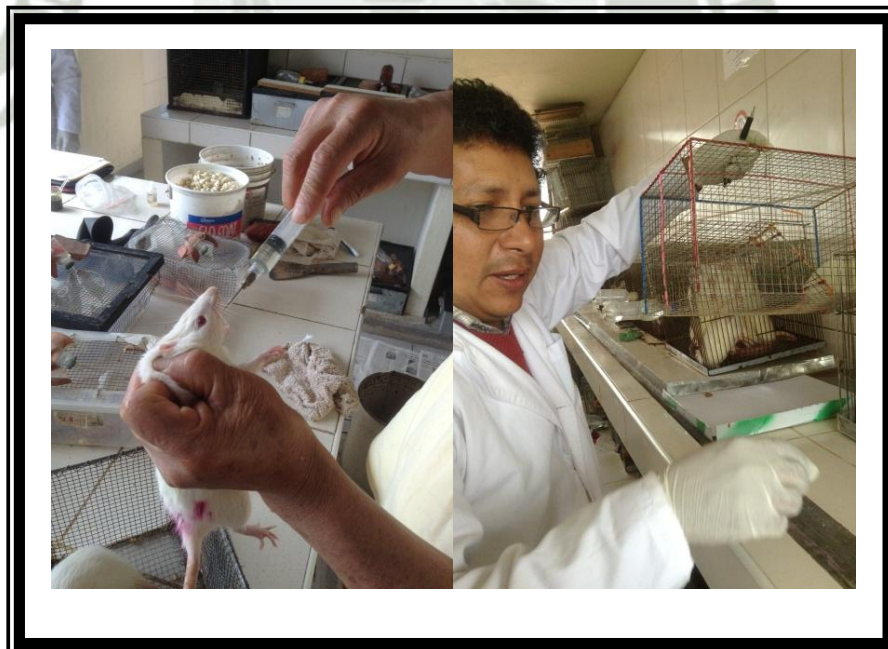
Nro Animal	Masa (gramos)		Frecuencia	
	Antes	Después	Antes	Después
1	1,10	2,30	1	2
2	0,80	2,10	0	3
3	1,00	1,50	2	3
4	1,20	2,00	1	4
5	0,90	1,00	2	3
Promedio	1,00	1,78	1,2	3
Anova $\alpha= 0,05$		Sig=0,013		Sig=0,006

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

El cuadro N° 2 muestra la masa y frecuencia de deposiciones antes y después de administrar el aceite de ricino a 05 animales de experimentación, con la finalidad de observar si existen diferencias entre ambos parámetros – masa y frecuencia – se realizó un análisis de varianza, se observa que para el caso de la masa a un nivel de confianza de 0.05 se obtiene una significancia de 0.013 siendo este valor menor al establecido, se concluye que existen diferencias significativas con respecto a la masa de las deposiciones antes y después de administrar el aceite de ricino, similar situación ocurre con respecto a la frecuencia, con la diferencia que la significancia es de 0,006. Y considerando el promedio en ambas mediciones podemos concluir que el aceite de ricino si muestra eficacia como inductor de la diarrea a una dosis de 2 mL/rata, en nuestros animales de experimentación.

La consistencia de las deposiciones no se muestra mediante un cuadro debido a que fueron muy homogéneas, en este sentido antes de administrar el aceite de ricino todas las heces eran duras, después de la administración las heces se observaban como líquidas o semilíquidas.

Figura N° 13: Administración de extractos

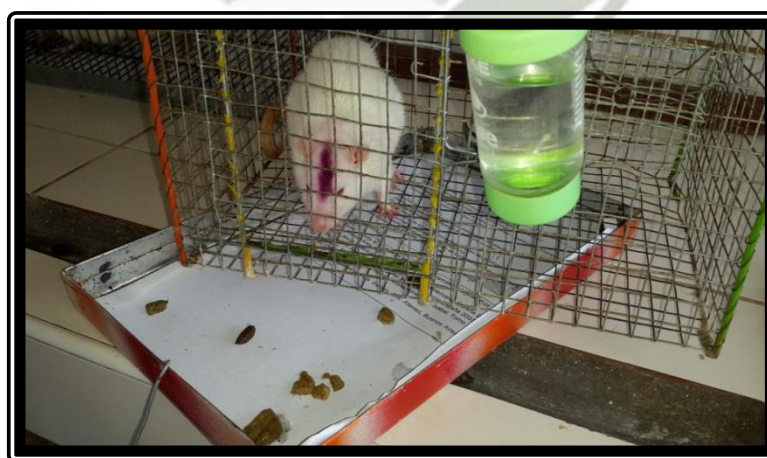


FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Figura N° 14: Deposiciones

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Posteriormente se estableció la dosis eficaz para la prueba final, para el caso de la decocción al ser una forma de administración “diluida” dada el margen de seguridad de estas formas extractivas se administró 5 mL. En cambio para el extracto seco de té se estableció dos dosis, una de 500 mg/kg y otra de 1000 mg/kg de animal. Estas dos dosis fueron evaluadas mediante una prueba piloto con un grupo control, utilizando 15 animales elegidos al azar, cinco para la primera dosis, otros cinco para la segunda y cinco para el grupo control, se consideró para esta prueba la masa de las deposiciones y su frecuencia. Esta prueba fue posterior a la administración del aceite de ricino cuya dosis se estableció anteriormente. A continuación los resultados.

Figura N° 15: Recolección de deposiciones

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Figura N° 16: Pesado de Deposiciones



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Cuadro N° 3

Masa de deposiciones para la determinación de dosis del extracto seco de té verde

Nro Animal	Masa (gramos)		
	Control	Dosis 1 (500 mg/kg)	Dosis 1 (1000 mg/kg)
1	2,30	0,70	0,60
2	2,50	1,00	0,70
3	2,00	1,50	0,90
4	2,70	1,20	1,00
5	2,40	1,30	0,80
Promedio	2,38	1,14	0,8
Anova $\alpha=0,05$	Sig=0,000		

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

El cuadro N° 3 muestra la masa de las deposiciones para la determinación de dosis de extracto seco de té verde, se observan los datos para los tres grupos (los de las dosis y el control). Esta medición se realizó en las 8 horas posteriores a la administración del aceite de ricino. Los resultados muestran que el grupo control tuvo como promedio en gramos de 2,38, siendo el mayor promedio,

seguido del grupo que recibió una dosis de 500 mg/Kg con un promedio de 1,14 gramos, finalmente el grupo que recibió una dosis de 1000 mg/Kg con 0,8 gramos de promedio. Al aplicar un análisis de varianza a estas mediciones con un nivel crítico de 0,05 se obtiene una significancia (Sig.) de 0,000, valor que es menor a 0,05 por lo que según el análisis de varianza existirían diferencias significativas entre los tres grupos experimentales.

Con la finalidad determinar entre que grupos existen diferencias significativas fue necesario realizar una prueba HSD (Tukey), cuyos resultados se muestran a continuación:

Cuadro N° 4

Prueba HSD (Tukey) para la masa de las deposiciones en la determinación de dosis de extracto de té verde

Grupo Piloto	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Dosis 1000mg/Kg	5	0,8000	
Dosis 500mg/Kg	5	1,1400	
Control	5		2,3800
Sig.		0,118	1,000

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

El cuadro N° 4 contiene los resultados de la prueba HSD (Tukey), en donde se resumen según la comparaciones realizadas, los subgrupos que a un nivel crítico de 0,05 son significativamente diferentes. Observamos que el primer subgrupo está conformado por los grupos experimentales que recibieron las dosis de 500 mg/Kg y 1000 mg/Kg; y el segundo subgrupo está conformado por el grupo control, ambos subgrupos son significativamente diferentes. Por lo que podemos concluir que las dos dosis muestran preliminarmente una eficacia distinta al grupo control.

Cuadro N° 5

**Frecuencia de deposiciones para la determinación de dosis del extracto seco de
té verde**

Nro Animal	Frecuencia		
	Control	Dosis 1 (500mg/kg)	Dosis 1 (1000mg/kg)
1	4	3	1
2	5	4	2
3	3	2	1
4	3	2	0
5	4	3	1
Promedio	3,8	2,8	1,0
Anova $\alpha= 0,05$			Sig=0,000

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

El cuadro N° 5 muestra la frecuencia de las deposiciones para la determinación de dosis de extracto seco de té verde, se observan los datos para los tres grupos (los de las dosis y el control). Esta medición al igual que la masa se realizó en las 8 horas posteriores a la administración del aceite de ricino. Los resultados muestran que el grupo control tuvo como promedio de frecuencia de 3,8 veces, siendo el mayor valor, seguido del grupo que recibió una dosis de 500 mg/Kg con un promedio de 2,8 veces, finalmente el grupo que recibió una dosis de 1000 mg/Kg con 1 vez como promedio. Al aplicar un análisis de varianza a estas mediciones con un nivel crítico de 0,05 se obtiene una significancia (Sig.) de 0,000, valor que es menor a 0,05 por lo que según el análisis de varianza existirían diferencias significativas entre los tres grupos experimentales.

Con la finalidad determinar entre que grupos existen diferencias significativas fue necesario realizar una prueba HSD (Tukey), cuyos resultados se muestran a continuación:

Cuadro N° 6

Prueba HSD (Tukey) para la frecuencia de las deposiciones en la determinación de dosis de extracto de té verde

Grupo Piloto	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Dosis 1000 mg/Kg	5	1,00	
Dosis 500 mg/Kg	5		2,80
Control	5		3,80
Sig.		1,000	0,158

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

El cuadro N° 6 contiene los resultados de la prueba HSD (Tukey), en donde se resume según las comparaciones realizadas, los subgrupos que a un nivel crítico de 0,05 son significativamente diferentes. Observamos que el primer subgrupo (subconjunto 1) está conformado por el grupo experimental que recibió la dosis de 1000 mg/Kg; y el segundo subgrupo (subconjunto 2) está conformado por el grupo control y el grupo que recibió el extracto de té verde a una dosis de 500 mg/Kg, ambos subgrupos son significativamente diferentes. Por lo que podemos concluir que solo la dosis de 1000 mg/Kg es eficaz puesto que es diferente del grupo control. Es precisamente con esta dosis con la que se trabajó para el estudio final que se presenta a continuación.

Cuadro N° 7

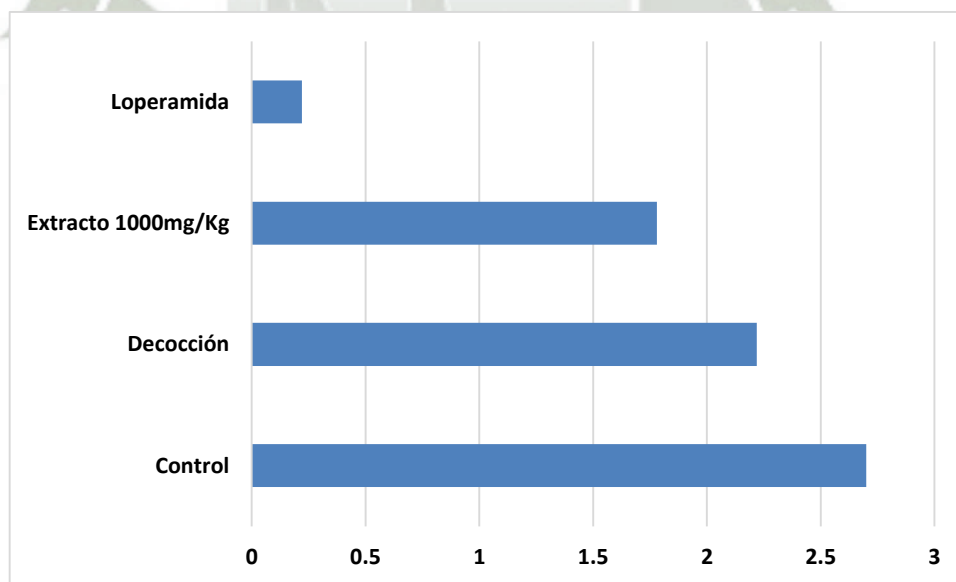
Masa de deposiciones (gramos) de los distintos grupos para el diseño experimental final de los extractos de té verde

Grupos Final	N	Media (gr)	Media-na	Desv. típ.	Máximo	Mínimo	
Control	5	2,70	2,60	0,23452	3.00	2.50	
Decocción	5	2,22	2,30	0,40866	2.70	1.80	
Extracto 1000mg/Kg	5	1,78	1,80	0,32711	2.30	1.50	
Loperamida	5	0,22	0,00	0.49193	1.10	0.00	
Anova $\alpha= 0,05$						Sig=0.000	

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Gráfico N° 1

Masa de deposiciones (gramos) de los distintos grupos para el diseño experimental final de los extractos de té verde



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En el cuadro N 7 se muestra los resultados de la masa de deposiciones para los cuatro grupos experimentales, luego de la inducción de diarrea con una dosis de aceite de ricino. Se observa que la mayor media corresponde al grupo control con 2,7 gr de deposiciones, luego sigue la decocción con 2,22 gr, luego el extracto de té verde con 1,78gr y finalmente la loperamida sólo con 0,22 gr. Al aplicar la prueba de ANOVA la significancia es menor al valor crítico permitido de 0,05, por lo que aceptamos la hipótesis alternativa de investigación que afirma que existen diferencias significativas entre los grupos de tratamiento.

Con la Prueba HSD (Tukey) las pruebas de múltiples rangos para la masa de deposiciones según los cuatro grupos experimentales demuestran que existe diferencia significativa entre el grupo con loperamida (subconjunto 1), con el grupo de extracto y decocción (subconjunto 2) y de estos con la decocción y el grupo control (subconjunto 3). En conclusión y atención a nuestros extractos concluimos, que en cuanto a la masa de deposiciones sólo el extracto muestra un efecto antidiarreico ya que se diferencia del control, sin embargo también difiere de la loperamida por lo que no se compara a este grupo. Por otra parte el grupo tratado con decocción de té verde si bien es cierto es estadísticamente similar al grupo con extracto también lo es al grupo control.

Cuadro N° 8

Prueba HSD (Tukey) de la Masa de deposiciones de los distintos grupos para el diseño experimental final de los extractos de té verde

GruposFinal	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Loperamida	5	0.22		
Extracto 1000mg/Kg	5		1.78	
Decocción	5		2.22	2.22
Control	5			2.70
Sig.		1,000	0,291	0,226

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En el cuadro N° 8 se muestra los resultados de la frecuencia de deposiciones para los cuatro grupos experimentales, luego de la inducción de diarrea con una dosis de aceite de ricino. Se observa que la mayor media corresponde al grupo control con 4,4 veces de deposiciones, luego sigue la decocción con 4 veces, luego el extracto de té verde con 2,8 y finalmente la loperamida sólo con 0,20. Al aplicar la prueba de ANOVA la significancia es menor (Sig.=0,000) al valor crítico permitido de 0,05, por lo que aceptamos la hipótesis alternativa de investigación que afirma que existen diferencias significativas entre los grupos de tratamiento.

Cuadro N° 9

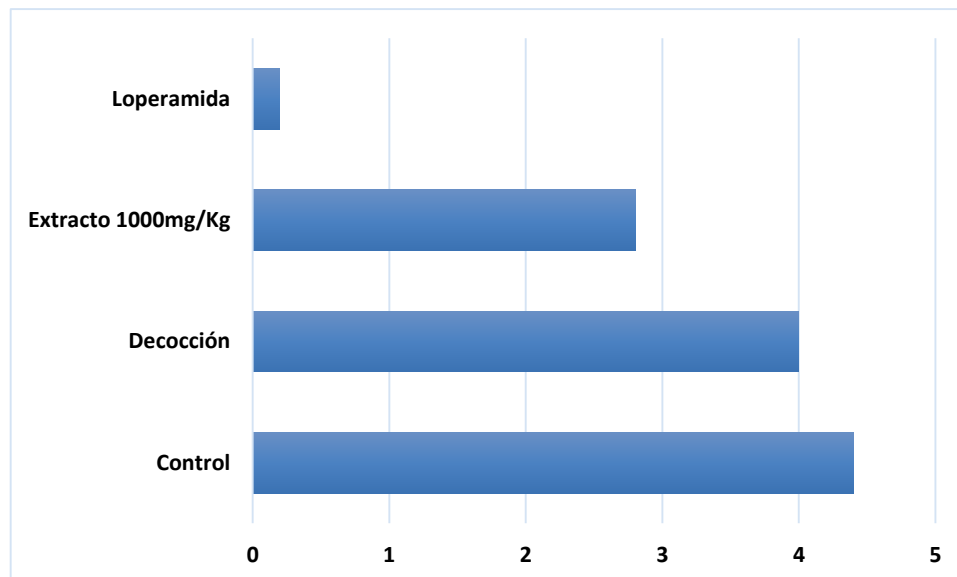
Frecuencia de deposiciones de los distintos grupos para el diseño experimental final de los extractos de té verde

Grupos Final	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Máximo	Mínimo
Control	5	4,40	4,00	0,548	5	4
Decocción	5	4,00	4,00	0,707	5	3
Extracto 1000 mg/Kg	5	2,80	3,00	0,837	4	2
Loperamida	5	0,20	0,00	0,447	1	0
Anova $\alpha= 0,05$						Sig=0,000

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Gráfico N° 2

Frecuencia de deposiciones de los distintos grupos para el diseño experimental final de los extractos de té verde



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Cuadro N° 10

Prueba HSD (Tukey) de la Frecuencia de deposiciones de los distintos grupos para el diseño experimental final de los extractos de té verde

GruposFinal	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Loperamida	5	0,20		
Extracto 1000 mg/Kg	5		2,80	
Decocción	5			4,00
Control	5			4,40
Sig.		1,0	1,0	0,768

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Con la Prueba HSD (Tukey) las pruebas de múltiples rangos para la frecuencia de deposiciones según los cuatro grupos experimentales demuestran que existe diferencia significativa entre el grupo con loperamida (subconjunto 1), con el grupo de extracto (subconjunto 2) y de estos con la decocción y el grupo control (subconjunto 3). En conclusión y atención a nuestros extractos concluimos, que en cuanto a la frecuencia de deposiciones sólo el extracto muestra un efecto antidiarreico ya que se diferencia del control, sin embargo también difiere de la loperamida por lo que no se compara a este grupo. Por otra parte el grupo tratado con decocción de té verde no tendría efecto ya que es estadísticamente similar al grupo control.

En atención a estos resultados es que concluimos que el extracto de té verde es el que muestra mayor actividad antidiarreica en animales de experimentación en tanto masa y frecuencia de deposiciones, si bien es cierto esta actividad difiere del grupo con loperamida, existe, ya que es distinta del grupo control. Y es con este extracto con el que se prosigue con la investigación en cuanto a la actividad antiespasmódica.

3.4. ACTIVIDAD ANTIESPASMÓDICA

La actividad antiespasmódica fue evaluada como se mencionó en el capítulo anterior mediante dos métodos, a continuación se presenta los resultados para el primer método que mide la velocidad de tránsito mediante la administración de una sustancia marcadoras que en nuestro caso fue el carbón activado.

Figura N° 15: Evaluación del recorrido intestinal sin extracto.



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Figura N° 16: Evaluación del recorrido intestinal con extracto.



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En el cuadro N°11 observamos que el menor porcentaje de tránsito fue el grupo tratado con loperamida con 48.92 %, luego el grupo tratado con extracto de 1000 mg/Kg con 60.31 %, y finalmente el control con 79.31 %. Al aplicar la prueba

de ANOVA la significancia es menor (Sig.=0.000) al valor crítico permitido de 0.05, por lo que aceptamos la hipótesis alternativa de investigación que afirma que existen diferencias significativas entre los grupos de tratamiento.

Cuadro N° 11

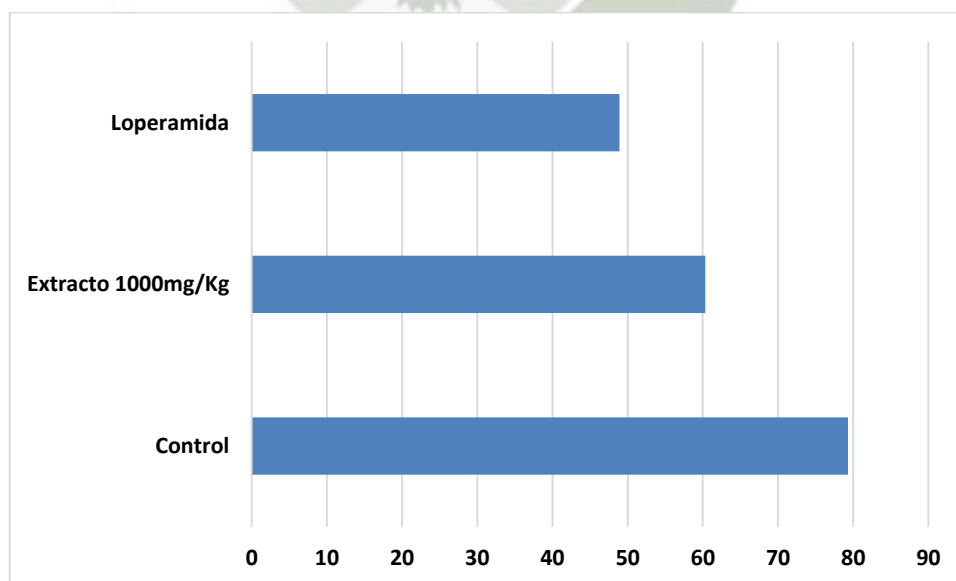
Actividad antiespasmódica del extracto de té verde medido mediante el porcentaje del tránsito intestinal en porcentaje

Grupos	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Mínimo	Máximo
Control	5	79,31	80,43	3,90082	74,44	84,34
Extracto 1000 mg/Kg	5	60,31	60,64	7,67862	52,17	71,43
Loperamida	5	48,92	48,31	4,79528	42,27	54,35
Anova $\alpha= 0,05$					Sig=0,000	

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Gráfico N° 3

Actividad antiespasmódica del extracto de té verde medido mediante el porcentaje del tránsito intestinal en porcentaje



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Con la Prueba HSD (Tukey) las pruebas de múltiples rangos para el porcentaje de tránsito intestinal que observamos en el cuadro N°12, que relaciona la distancia recorrida por el marcador en relación a la longitud total del intestino según los cuatro grupos experimentales demuestran que, existe diferencia significativa entre el grupo con loperamida (subconjunto 1), con el grupo de extracto (subconjunto 2) y de estos con el grupo control (subconjunto 3). En conclusión el extracto de té verde tiene efecto sobre la motilidad intestinal, ya que es diferente al control, aunque esta eficacia no es similar al grupo tratado con loperamida.

Cuadro N° 12

Prueba HSD (Tukey) de la actividad antiespasmódica del extracto de té verde medido mediante el tránsito intestinal en porcentaje

Grupos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Loperamida	5	48,92		
Extracto 1000 mg/Kg	5		60,31	
Control	5			79,31
Sig.		1,000	1,000	1,000

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

El segundo método para medir la actividad antiespasmódica fue uno en el que se utilizó segmentos de intestino delgado, los que fueron tratados con solución de Tyrode a 37 °C, midiendo las contracciones mediante el instrumento conocido como quimógrafo.

En el cuadro N° 13 observamos que el menor porcentaje de tránsito fue para el grupo tratado con la mayor concentración de extracto que fue de 200 µg/ml con 8.29 veces, seguido de la concentración de 150 µg/ml con 11.29, las concentraciones siguientes tienen promedios ascendentes finalmente el grupo control presentó 14.43 veces de contracciones. Al aplicar la prueba de ANOVA la significancia es menor (Sig.=0.000) al valor crítico permitido de 0.05, por lo que

aceptamos la hipótesis alternativa de investigación que afirma que existen diferencias significativas entre los grupos de tratamiento.

Cuadro N° 13

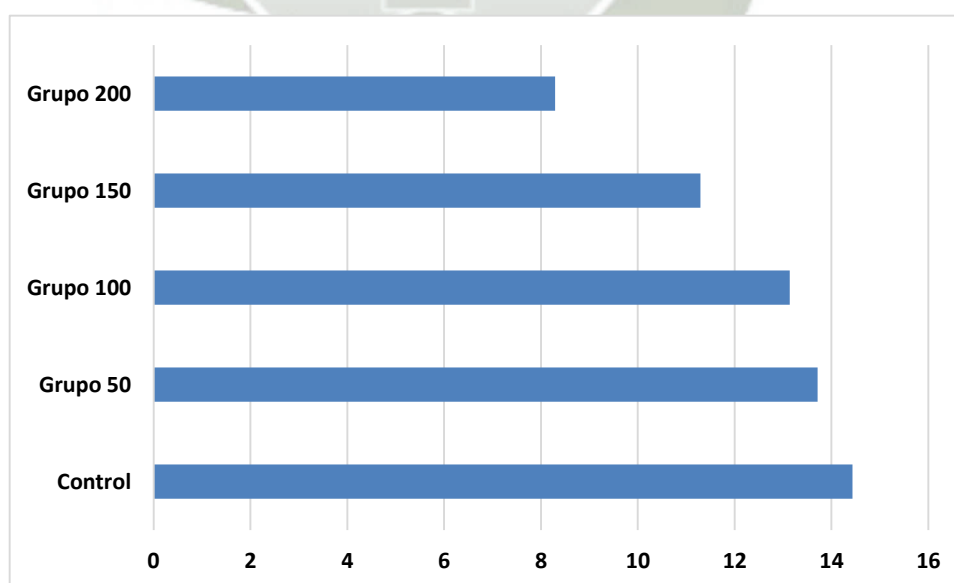
Actividad antiespasmódica del extracto de té verde medido mediante el número de contracciones utilizando el Quimógrafo

Grupos	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Mínimo	Máximo
Control	7	14,43	14,00	0,976	13	16
Grupo 50	7	13,71	14,00	1,113	12	15
Grupo 100	7	13,14	13,00	0,900	12	14
Grupo 150	7	11,29	11,00	1,380	10	13
Grupo 200	7	8,29	8,00	0,951	7	10
Anova $\alpha= 0.05$					Sig=0.000	

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Gráfico N° 4

Actividad antiespasmódica del extracto de té verde medido mediante el número de contracciones utilizando el Quimógrafo



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En el cuadro Con la Prueba HSD (Tukey) las pruebas de múltiples rangos para número de contracciones que observamos en el cuadro N° 14, que utiliza para la evaluación el quimógrafo según cuatro concentraciones de extractos, existe diferencia significativa entre el grupo tratado con 200 $\mu\text{g/mL}$ (subconjunto 1), con el grupo tratado con 150 $\mu\text{g/ml}$ (subconjunto 2) y de estos con el grupo control y los grupos de segmentos que fueron tratados con 50 y 100 $\mu\text{g/mL}$ (subconjunto 3). En conclusión el extracto de té verde tiene efecto sobre la motilidad intestinal, ya que es estadísticamente diferente al contro.

Cuadro N° 14

Prueba HSD (Tukey) de la actividad antiespasmódica a diferentes dosis del extracto de té verde medido en el Quimógrafo

Grupos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Grupo 200	7	8,29		
Grupo 150	7		11,29	
Grupo 100	7			13,14
Grupo 50	7			13,71
Control	7			14,43
Sig.		1,000	1,000	,196

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Finalmente se determinó que luego de la administración de los extractos; la masa de las deposiciones de las ratas a las cuales se les administró la decocción disminuyó en un 17,8 %, en cuanto a las que se les administró el extracto seco disminuyó en un 34,1 % y al grupo al que se le administró loperamida disminuyó en 91,8 % en comparación al grupo control. En relación a la frecuencia de las deposiciones se determinó que el grupo al cual se administró la decocción disminuyó en 9,1 %, el grupo al que se administró el extracto seco en 36,4 %; y al grupo de la loperamida disminuyó en 95,5 %, en comparación al control.

Con relación a la actividad antiespasmódica los resultados obtenidos luego de la investigación realizada demostraron que el tránsito intestinal disminuyó en un 23.9 %, así mismo en relación a las contracciones por minuto, se determinó que la que presentó un mejor efecto antiespasmódico fue el extracto seco a una concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$, disminuyendo dichas contracciones en un 42.6 %.

Por lo tanto se logró determinar que el Té verde, tiene efecto antidiarreico y antiespasmódico.



CONCLUSIONES

Se llegó a las siguientes conclusiones:

PRIMERA

Mediante el método de extracción con Soxhlet se obtuvo un extracto de té verde utilizando como disolvente alcohol etílico. La decocción fue el método utilizado para obtener un decocto de té verde, estos productos naturales fueron objeto de estudio. El extracto seco tuvo un rendimiento del 11.43 %.

SEGUNDA

La cromatografía en capa fina evidenció la presencia de terpenos, taninos y no alcaloides.

TERCERA

Se realizaron dos pruebas pilotos, la primera permitió determinar la dosis de 2ml de aceite de ricino administrado por vía oral como agente inductor de diarrea, la segunda permitió establecer como probable dosis eficaz de extracto de té verde de 1000mg/kg, ya que mostró diferencias significativas en cuanto a la masa y frecuencia de deposiciones respecto de la dosis de 500 mg/Kg y el grupo control. Estos dos últimos no mostraron diferencias significativas.

CUARTA

El extracto de té verde obtenido mediante extracción Soxhlet, mostró actividad antidiarreica debido a que la masa y frecuencia de deposiciones fueron distintas del grupo control, sin embargo, esta eficacia no es similar al observado con la loperamida. En cuanto al grupo tratado con el extracto obtenido mediante decocción no presenta eficacia ya que los resultados de masa y frecuencia de deposiciones se comparan al grupo control.

QUINTA

El extracto de té verde presenta actividad antiespasmódica, debido a que disminuyó el tránsito intestinal y el número de contracciones medidas en el quimógrafo, en comparación con al grupo control, sin embargo esta es distinta a la observada con la loperamida. La disminución de la frecuencia de contracciones observada mediante equipo quimógrafo es manifiesta a una concentración *in vitro* de 200 µg/mL.



SUGERENCIAS

1. Realizar un control de calidad a los productos naturales que contienen té verde y que se expenden en nuestra localidad.
2. Realizar un estudio comparativo de la actividad antidiarreica del té verde en comparación con el te negro.
3. Determinar las reacciones adversas y perfil de seguridad (estudio de toxicidad) tras la administración continua de té verde en animales de experimentación y seres humanos.
4. Evaluar los demás efectos tales como la disminución del riesgo de arterioesclerosis, estimulante del sistema nervioso central, ya que el té verde es muy comercializado en nuestra ciudad.
5. Considerar al té verde como una alternativa en el tratamiento de los procesos diarreicos, por encontrarse como producto natural en nuestro medio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmad I, Owais M. Modern Phytomedicine, 1ª Edition. Ed Weinheim: Wiley-VCH Press; 2006.
2. Alonso J. Tratado de Fitomedicina: Bases Clínicas y Farmacológicas. 1ª Edición. Argentina: Editorial ISIS; 2004.
3. Alvarado Alva J. Apuntes de Farmacología. 3ª Edición. Lima-Perú: Editorial Apuntes Médicos del Perú; 2008.
4. Barnes J, Anderson L, Phillipson D. Herbal Medicines. 3ª Edición, Pharmaceutical Press; 2007.
5. Brack Egg A. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. 1ª Edición. XXXX(lugar): XXX(editorial); 1999.
6. Bravo Díaz L. Farmacognosia. 1ª Edición. Madrid - España: Editorial Elsevier; 2003.
7. Bruneton J. Farmacognosia Fitoquímica: Plantas Medicinales. 2ª Edición. España: Editorial Acribia S.A; 2001.
8. Rozman C. Compendio de Medicina Interna, 2ª Edición. España: Ediciones Harcourt S.A; 2002.
9. Carrasco Díaz S. Metodología de la Investigación Científica, 1ª Edición. Lima, Perú: Editorial San Marcos; 2005.
10. Carruthers G, Hoffman B, Melmon K, Nierenberg D. Melmon and Morrelli's: Clinical Pharmacology. 4ª Edition, Editorial McGraw Hill; 2000.
11. Castillo Abarca A, Valenzuela Ponze V. Determinación de la Actividad Laxante y/o Catártica de los Extractos de Hojas de Senna Birostris (Mutuy) en Animales de Experimentación. Universidad Católica de Santa María. Arequipa; 2012.
12. Castillo García E, Martínez Solís I. Manual de Fitoterapia. 1ª Edición. Editorial Elsevier Masson; 2007.

13. Wayne D. Bioestadística, Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. 4ª Edición, México: Editorial Limusa S.A; 2007.
14. Flórez J. Farmacología Humana, 5ª Edición. España: Editorial Elsevier; 2008.
15. Gennaro A. Remington Farmacia. 20ª Edición. Buenos Aires – Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2003.
16. Guyton A. Textbook of Medical Physiology. 11ª Edición. Editorial Elsevier; 2006.
17. Harman J, Limbirt L, Gilman A. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 11ª Edición. McGraw-Hill Interamericana; 2008.
18. Harvey R, Champe P. (Editors). Pharmacology. 4ª Edición. Lippincott Edition; 2009.
19. James AD. Handbook of Medicinal Plants of Latin America. 1ª Edición. CRC Press. 2007.
20. Kalant H. Roschlau W. Principios Básicos de Farmacología Médica. 6ª Edición, México: Editorial Oxford University Press; 2002.
21. Katzung Bertram G.: Farmacología Básica y Clínica. 11ª Edición. Editorial McGraw Hill Interamericana; 2009.
22. Kayser F. Medical Microbiology. 10ª Edition. Editorial Thieme; 2005.
23. Kukllinski C. Farmacognosia, Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural, 1ª Edición. Ediciones Omega S.A.; 2000.
24. Lamarque A (Coord.). Fundamentos Teórico Prácticos de Química Orgánica. 1ª Edición. Editorial Brujas. 2008.
25. Laxative Activity Of *Vitex Negundo* Linn, Leaves. Department of Pharmacology, College of Pharmacy. 2008.
26. Laxative activities of *Mareya micrantha* (benth.) Mull arg. (euphorbiaceae) leaf aqueous extract in rats. Souleymane Méite et al. 2010.
27. Lock de Ugaz O; Investigación Fitoquímica Métodos en el Estudio de Productos Naturales. 1ª Edición. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 1988.

28. Lorenzo P, Moreno A, Leza J.C. y Moro M.A. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 18ª Edición. Editorial Médica Panamericana; 2009.
29. Marcano D, Hasegawa M. Fitoquímica Orgánica. 2ª Edición. Universidad Central de Venezuela, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. 2002.
30. Meite S. et al. Antidiarrheal Activity of the Ethyl Acetate Extract of Morinda Morindoides in Rats. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2009; 8(3): 201-207.
31. Mostacero J. Mejía F. Gamarra O. Taxonomía de las Fanerógamas Útiles del Perú. 1ª Edición. Perú: Editorial Normas Legales S.A.C.; 2002.
32. Ochoa CL. et al. Efecto Antidiarreico y Antiespasmódico del Extracto Metanólico de Punica Granatum (Granada) en Ratones. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2008.
33. Rang H, Dale M. Pharmacology, 6ª Edition, Editorial Elsevier; 2007.
34. Rouf R. et al: Propiedades Antidiarreicas de Diospyros Peregrina en el Modelo de Diarrea Inducida con Aceite de Ricino en Ratones. Ars Pharm. 2006; 47(1): 81-89.
35. Singh Rajput M. et al.: Evaluation of Antidiarrheal Activity of Aerial Parts of Vinca Major in Experimental Animals. Middle-East Journal of Scientific Research. 2011; 7(5): 784-788.
36. Sotta Apaza N. Plantas Medicinales y Aromáticas De La Región Arequipa. 1ª Edición. Ediciones CORDAID; 2000.
37. Vanaclocha B, Cañigueral S. (Edit.): FITOTERAPIA VADEMECUM DE PRESCRIPCIÓN. 4ª Edición, Editorial Masson; 2003.
38. Villar del Fresno A. (Editor): FARMACOGNOSIA GENERAL. 1ª Edición. Editorial Síntesis S.A.; 2000.

ANEXOS

REACTIVO DE LIEBERMANN-BURCHARD: Se mezcla a 0 °C 1 mL de anhídrido acético y 1 mL de cloroformo, después se añade una gota de ácido sulfúrico concentrado. Este reactivo se prepara inmediatamente antes de uso.

REACTIVO DE DRAGENDORFF: en un matraz Erlenmeyer de 125 mL disolver 8 gr. De nitrato de bismuto pentahidratado con 20 mL de ácido nítrico (cuya densidad sea de 1,18 g/mL, al 30 %). En otro matraz colocar 27,2 gr de yoduro de potasio con 50 mL de agua. Mezclar las dos soluciones y dejarlas en reposo durante 24 horas. Decantar la solución (para separar residuos de cristales de nitrato de potasio y aforar con agua a 100 mL).

SOLUCIÓN DE CLORURO FÉRRICO: Disolver 1,25 gr de cloruro férrico en 25 mL de agua y aforar a 50 mL.

ANEXO 1: SÁBANA DE DATOS ACTIVIDAD ANTIDIARREICA

Grupos Final		GramosFinal	FrecuenciaFinal
Control	1	2.90	5
	2	2.60	4
	3	2.50	4
	4	2.50	4
	5	3.00	5
	Total	N	5
Decocción	1	2.70	5
	2	2.50	4
	3	2.30	4
	4	1.80	4
	5	1.80	3
	Total	N	5
Extracto 1000mg/Kg	1	1.80	3
	2	1.50	2
	3	1.50	2
	4	2.30	4
	5	1.80	3
	Total	N	5
Loperamida	1	.00	0
	2	.00	0
	3	1.10	1
	4	.00	0
	5	.00	0
	Total	N	5
Total	N	20	20

ANEXO 2: SÁBANA DE DATOS ACTIVIDAD ANTIESPASMÓDICA

GRUPOS		Porcentaje
Control	1	76,47
	2	74,44
	3	80,43
	4	84,34
	5	80,90
	Total	N
Extracto 1000mg/Kg	1	52,17
	2	54,17
	3	71,43
	4	60,64
	5	63,16
	Total	N
Loperamida	1	54,35
	2	42,27
	3	47,00
	4	48,31
	5	52,69
	Total	N
Total	N	15

ANEXO 3: SÁBANA DE DATOS ACTIVIDAD ANTIESPASMÓDICA

Grupos		Contracciones
Control	1	14
	2	15
	3	14
	4	16
	5	13
	6	14
	7	15
	Total	N
Grupo 50	1	15
	2	13
	3	14
	4	13
	5	14
	6	15
	7	12
	Total	N
Grupo 100	1	13
	2	14
	3	14
	4	12
	5	12
	6	13
	7	14
	Total	N
Grupo 150	1	10
	2	10
	3	10
	4	12
	5	13
	6	13
	7	11
	Total	N
Grupo 200	1	10
	2	8
	3	9
	4	8
	5	7
	6	8
	7	8
	Total	N
Total	N	35