

Efecto gastroprotector de la miel de abeja en ratas Holtzman con úlceras gástricas inducidas por piroxicam

Gastroprotective effect of honey in Holtzman rats with piroxicam-induced gastric ulcer

Aníbal Enrique Roldán-Rodríguez^{1a}, Erick Joel Vega-Quispe^{1a}, Isabel Silva-Ocas^{1,2a}, Kevin Edward Lemus-Arteaga^{1,3a}, Jaime Gilberto Gonzales-Saldaña^{1,2a}, Franklyn Norwich Ruiz-Urbina^{1,4a}, Iván Freddy Urtecho-Gaitan^{1,3a}, Víctor Edwin Zamora-Mostacero^{1a}, Juan Edder Vargas-Ferrer^{1,4a}, Gillmari Juliza Valverde-Quezada^{1a}, Kevin Oswaldo Vásquez-Sandoval^{1,4a}, Juan Jorge Huamán-Saavedra^{5b}

¹ Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú

² Scientia Clinical and Epidemiological Research Institute. Trujillo, Perú

³ Círculo de Extensión Socio Cultural Daniel Alcides Carrión. Trujillo, Perú

⁴ Sociedad Científica de Estudiantes de Medicina, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú

⁵ Departamento de Ciencias Básicas, Medicina, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.

^a Estudiante de medicina, ^b Docente

Recibido: 05-01-2016

Aprobado: 02-03-2016

RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto de la miel de abeja sobre úlceras gástricas inducidas por piroxicam en ratas Holtzman. **Material y método:** Se trabajó con 48 ratas hembra Holtzman de ocho semanas de edad con pesos entre 100 y 200 g, divididas en 6 grupos, con las siguientes intervenciones: Grupo A: agua; Grupo B: piroxicam (30 mg/kg); Grupo C: omeprazol (5 mg/kg) y piroxicam (30 mg/kg); Grupo D: miel (2,5 g/kg) y piroxicam (30 mg/kg); Grupo E: miel (5 g/kg) y piroxicam (30 mg/kg); Grupo F: miel (7,5 g/kg) y piroxicam (30 mg/kg). Luego de las intervenciones se realizaron estudios macroscópicos de las lesiones de la mucosa gástrica mediante el paquete Scion Image® y microscópicos, por estudio histológico. **Resultados:** El estudio macroscópico determinó que la miel a dosis de 5 g/kg y 7,5 g/kg se asoció a úlceras gástricas significativamente menores que el piroxicam ($p=0,016$ y $p=0,001$ respectivamente); por otro lado, el efecto gastroprotector de ambas dosis fue similar al omeprazol ($p>0,05$). En el estudio microscópico, se halló que solo la miel a dosis de 7,5 g/kg tuvo lesiones significativamente menores al piroxicam ($p=0,0018$), además que el efecto gastroprotector fue similar al omeprazol ($p=1$). **Conclusiones:** La miel a dosis 7,5 g/kg mostró un efecto gastroprotector similar al del omeprazol tanto a nivel macroscópico y microscópico. La miel a dosis de 5 g/kg tuvo un efecto gastroprotector similar al omeprazol, solo a nivel macroscópico.

Palabras clave: Úlcera gástrica; Piroxicam; Ratas (fuente: DeCS BIREME).

ABSTRACT

Objective: To determine the effect of treatment with honey in piroxicam-induced gastric ulcer in Holtzman rats. **Materials and methods:** 48 eight-week old female Holtzman rats, weights between 100 and 200 grams, were divided into 6 treatment groups as follow: Group A: water; Group B: piroxicam (30 mg/kg); Group C: omeprazole (5 mg/kg) and piroxicam (30 mg/kg); Group D: honey (2.5 g/kg) and piroxicam (30 mg/kg); Group E: honey (5 g/kg) and piroxicam (30 mg/kg); Group F: honey (7.5 g/kg) and piroxicam (30 mg/kg). Macroscopic studies, using Scion Image, and microscopic histological section of gastric mucosa were performed after the interventions. **Results:** The results of the macroscopic studies showed statistically significant differences for both doses of honey at 6 g/kg and 7.5 g/kg when compared to piroxicam ($p=0.016$ and $p=0.001$ respectively) and the gastroprotective effect was similar when compared to omeprazole ($p>0.05$). Microscopic studies showed statistically significant differences only for dose at 7.5 g/kg when compared to piroxicam ($p=0.0018$) and the gastroprotective effect was similar to omeprazole ($p=1$). **Conclusion:** Dose of honey at 7.5 g/kg showed gastroprotective effect at microscopic and macroscopic studies when compared to omeprazole.

Keywords: Stomach ulcer; Piroxicam; Rats (source: MeSH NLM).

INTRODUCCIÓN

La miel es una solución altamente concentrada de una mezcla compleja de azúcares, principalmente glucosa y fructosa (90% del contenido total)⁽¹⁾. Es producida por abejas (*Apis mellifera*), a partir del néctar de plantas, secreciones de las mismas o de excreciones de insectos succionadores de néctar^(1,2). La miel además contiene aminoácidos, vitaminas, minerales, enzimas, fructo-oligosacáridos y polifenoles tales

como flavonoides; que le confieren actividad antioxidante significativa y algunas de sus acciones terapéuticas⁽³⁾. Entre estas últimas, destaca el uso para la prevención y tratamiento de algunos trastornos neoplásicos, cardiovasculares, inflamatorios, y gastrointestinales - entre ellos la úlcera gástrica^(1,4). La acción gastroprotectora de la miel se debería a que mantiene o mejora el nivel de sustancias sulfhídricas no proteicas en el tejido gástrico sometido a factores que inducen la ulceración⁽⁵⁾.

Citar como: Roldán-Rodríguez AE, Vega-Quispe EJ, Silva-Ocas I, Lemus-Arteaga KE, Gonzales-Saldaña JG, Ruiz-Urbina FN, et al. Efecto gastroprotector de la miel de abeja en ratas Holtzman con úlceras gástricas inducidas por piroxicam. Rev Gastroenterol Peru. 2016;36(3):219-24

Las úlceras gástricas son excavaciones en la mucosa gastrointestinal que se extienden a través de la *muscularis mucosae* hasta la submucosa o zonas más profundas. Pueden ubicarse en cualquier parte del estómago, pero frecuentemente se encuentran en la zona distal, usualmente en el antro ⁽⁶⁾. Las complicaciones más graves de las úlceras incluyen el sangrado y la perforación, presentando una tasa de mortalidad relacionada al sangrado por úlcera péptica de 5-12% ⁽⁷⁾. La mayoría de las úlceras gástricas se deben a la infección por *Helicobacter pylori*, al uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), consumo de alcohol y al estrés ⁽⁸⁾.

Estudios como los de Mobarok et al. 1997, Gharzouli et al. 2002, Alagwu et al. 2011, y Bukhari et al. 2011, indican que la miel en diversas dosis presenta un efecto gastroprotector frente a diferentes mecanismos de inducción de úlcera gástrica ⁽⁹⁻¹²⁾. Adicionalmente a esto, Al Somal et al. 1994 observó que la miel de manuka evita el crecimiento de *Helicobacter pylori* ⁽¹³⁾. Sin embargo, es el mismo Mobarok et al. 2003 quien indica, en un estudio de inducción de úlcera gástrica con amonio, que la miel por sí sola no presentaba efecto gastroprotector, pero sí un efecto sinérgico al combinarse con sucralfato ⁽¹⁴⁾. Debido a que los resultados de los diferentes estudios son aún controversiales es que el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la miel de abeja en úlceras gástricas inducidas por piroxicam en ratas Holtzman.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

Se trabajó con 48 ratas hembra Holtzman de ocho semanas de edad, con un peso entre 100 y 200 gramos, adquiridas en el bioterio de la Universidad Privada Cayetano Heredia, Lima. Se distribuyó al azar 8 animales por grupo, incluyendo un ajuste de pérdidas del 25% para asegurarse una cantidad mínima de 6 animales por grupo ⁽¹⁵⁾. Criterios de exclusión: ratas en estado de gravidez. Criterios de eliminación: animales que desarrollaron alguna enfermedad no inherente al estudio o que fallecieron durante el experimento o la aclimatación.

Análisis de la miel

La miel de abeja fue proporcionada por la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Se le realizó un análisis fisicoquímico para verificar su pureza e identificar sus componentes; entre los que se encontraron como metabolitos primarios: azúcares reductores (fructosa y glucosa), cetosas, pentosas, aldosas, y metabolitos secundarios: flavonoides y esteroides.

Procedimientos experimentales

El día 1 comenzó la aclimatación en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNT, bajo las siguientes condiciones: los animales recibieron dieta balanceada y agua ad libitum, la temperatura del ambiente se mantuvo entre 20 y 22 °C, con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas. El día 8 se repartieron aleatoriamente las ratas en 6 grupos, de acuerdo a la intervención por realizar (Tabla 1). Una rata falleció en el grupo control normal durante la aclimatación. Los siguientes días se siguió con las mismas condiciones, verificando su peso semanalmente hasta que alcanzaron un peso promedio de 150 g. El día 21, tras un ayuno de 24 horas, se administró miel disuelta en agua por vía oral, utilizando una cánula, según los grupos a los que correspondían (Tabla 1) y 30 minutos después, se les administró piroxicam 30 mg/kg (Piroxicam®, Genfar, Bogotá) vía subcutánea de acuerdo al grupo correspondiente ^(16,17). El sacrificio se realizó después de 4 horas mediante la inyección intraperitoneal de pentobarbital 150 mg/kg (Halatal®, Montana S.A, Lima) ⁽¹⁸⁾. Para valorar el efecto de las distintas intervenciones realizadas, se emplearon análisis macro y microscópicos, para esto los estómagos fueron retirados y abiertos en su extensión por la curvatura mayor. Posteriormente, fueron lavados con suero fisiológico, extendidos en tablas de disección y fotografiados, con el fin de analizarlos macroscópicamente mediante el uso del paquete Scion Image Software® (Scion Corporation, Maryland) (ver Figura 1). Se calculó el porcentaje de área ulcerada de mucosa gástrica en cada muestra, basándose en el método de medición descrito por Khan et al. ⁽¹⁹⁾. Para el análisis microscópico, se procesaron muestras de pared gástrica en láminas histológicas y fueron evaluadas según el sistema de puntuación de grado de lesión descrito por Izzettin et al. (2010) ⁽²⁰⁾.

Aspectos éticos

Los animales fueron manejados de acuerdo a los lineamientos de la "Guide for the care and use of laboratory animals, 8^{va} edición" y se siguieron las normas dictadas por la CIOMS en "Principios Directrices Internacionales para la Investigación Biomédica que implique el Uso de Animales" ⁽²¹⁾.

Tabla 1. Intervenciones realizadas por grupo.

Grupo	Protector	Ulcerogeno	Denominación
A	Solvente de miel (H ₂ O)	No Piroxicam	Control normal
B	-	Piroxicam (30 mg/kg)	Control negativo
C	Omeprazol (5 mg/kg)	Piroxicam (30 mg/kg)	Control positivo
D	Miel (2,5 g/kg)	Piroxicam (30 mg/kg)	Dosis 1
E	Miel (5 g/kg)	Piroxicam (30 mg/kg)	Dosis 2
F	Miel (7,5 g/kg)	Piroxicam (30 mg/kg)	Dosis 3

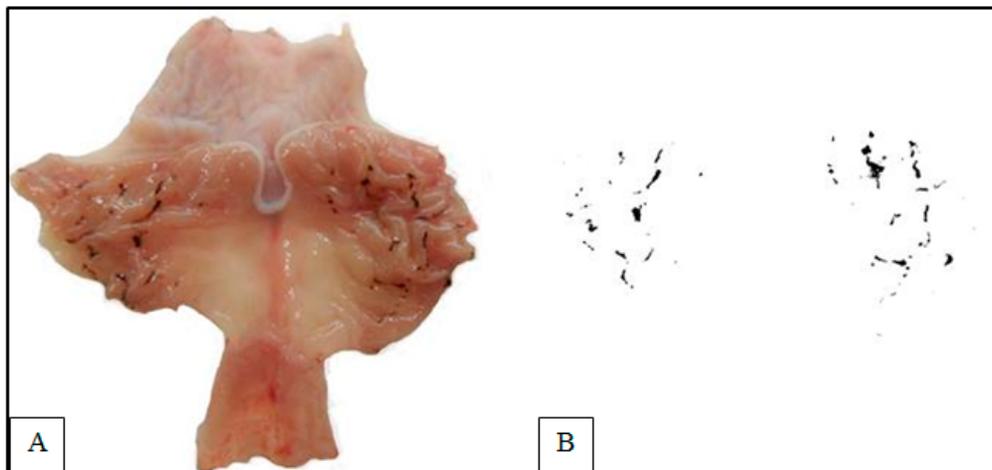


Figura 1. Imagen del efecto ulcerativo del piroxicam. A) Se muestra el estómago de una rata del control negativo donde se evidencian las lesiones causadas por el piroxicam. B) Se muestran las lesiones registradas por el programa Scion Imagen Software®.

Análisis estadístico

Se realizó mediante el programa estadístico IBM SPSS® Statistics versión 22 (SPSS Inc, Chicago). Se determinó la normalidad muestral de los distintos grupos mediante la prueba de Kolgomorov-Smirnov y se usó la prueba de Tukey para la comparación de los porcentajes de área ulcerada entre grupos (análisis macroscópico) y la prueba de Mann-Whitney para comparar los puntajes obtenidos en la escala de análisis histológicos (análisis microscópico).

Para ambos análisis, primero se verificó el efecto ulcerativo del piroxicam, comparando el control normal con el control negativo. Luego se realizaron las comparaciones entre el control negativo y los grupos de dosis de miel, con el fin de comprobar su efecto gastroprotector. Después, solo aquellos grupos dosis de miel que tuvieron un efecto gastroprotector significativo se compararon con el grupo control positivo. Por último, se hizo una comparación entre los grupos dosis de miel. Para todas las pruebas se consideró significativo un $p < 0,05$.

RESULTADOS

Análisis macroscópico

Las medianas de los porcentajes de área ulcerada de cada grupo, se muestran en la Figura 2. Se observa que de todos los grupos que recibieron miel, solo las dosis 5 y 7,5 g/kg tuvieron efecto gastroprotector estadísticamente significativo con respecto a la exposición a piroxicam. Dichas dosis mostraron un efecto similar al del omeprazol. Aunque la dosis 7,5 g/kg protegió en mayor medida la mucosa gástrica que la dosis 5 g/kg, no se halló diferencia significativa entre ambos efectos. (Tabla 2).

Análisis microscópico

Las medianas según el grado de lesión microscópica por grupo se muestran en la Figura 3. Se observa que de todos los grupos que recibieron miel, solamente la dosis 7,5 g/kg tuvo efecto gastroprotector estadísticamente significativo frente a la administración de piroxicam. Además, el efecto gastroprotector de la miel a dosis 7,5 g/kg fue similar al del omeprazol. (Tabla 3).

DISCUSIÓN

El fármaco utilizado para la inducción de la úlcera gástrica fue piroxicam, el cual pertenece al grupo de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Estos son los medicamentos más comúnmente consumidos en el mundo y sus propiedades terapéuticas antipiréticas, analgésicas y antiinflamatorias son bien aceptadas (22). Sin embargo, entre un amplio rango de efectos adversos, los AINEs se asocian a un daño a nivel gastrointestinal (8). Esta se debe a la supresión de prostaglandina endógenas gástricas, lo cual lleva a una disminución del moco epitelial, de la secreción

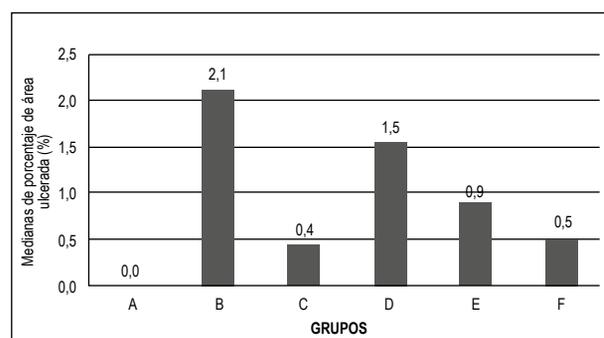


Figura 2. Medianas de los porcentajes de área ulcerada en ratas albinas Holtzman tras inducción de úlcera gástrica por piroxicam.

Tabla 2. Comparaciones de las medianas del porcentaje de área ulcerada entre los distintos grupos de ratas albinas Holtzmantras inducción de úlcera gástrica por piroxicam (comparación mediante la prueba de Tukey).

Comparación		p*
Control normal M _e =0	Control negativo M _e =2	0,000
	Control positivo M _e =0,4	0,000
	Dosis 1 M _e =1,5	0,592
Control negativo M _e =0,2	Dosis 2 M _e =0,9	0,016
	Dosis 3 M _e =0,5	0,001
Control positivo M _e =0,4	Dosis 2 M _e =2	0,8
	Dosis 3 M _e =0,5	1
Dosis 2 M _e =2	Dosis 3 M _e =0,5	0,894

* p<0,05 es significativo.

de bicarbonato y de la perfusión de la mucosa. Todo esto da como resultado una menor resistencia de la mucosa a la injuria (12,23). El efecto adverso más importante sobre el tracto gastrointestinal es la úlcera péptica.

El mecanismo por el cual la miel tiene un efecto gastroprotector contra la inducción de úlcera gástrica por piroxicam, podría basarse en tres mecanismos: a) Tener como constituyente al ácido araquidónico (24), b) Disminución de la permeabilidad vascular (5,25) y c) Mantenimiento de componentes sulfidrílicos no proteínicos (Glutación) (5,25). Esto condiciona la formación final de un gel de moco-bicarbonato que cubre y protege a la mucosa de la formación de úlceras (24).

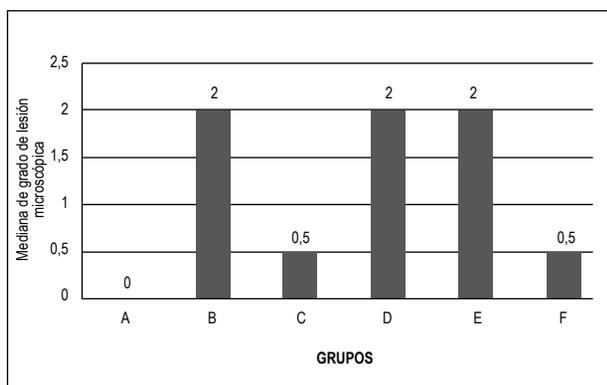


Figura 3. Medianas del grado de lesión microscópica por grupo de ratas albinas Holtzman tras inducción de úlcera gástrica por piroxicam.

El ácido araquidónico, precursor de prostaglandinas, presente en la miel, estimula la secreción gástrica de moco y bicarbonato (11). Los componentes fenólicos de la miel participan en la supresión de la actividad proinflamatoria de la enzima ciclooxigenasa tipo 2 (COX2) y del óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) (26).

La disminución de la permeabilidad vascular se puede explicar debido a que la miel estimula los sensores nerviosos de estómago que responden a capsaicina. Este mecanismo está relacionado con la disminución de la actividad del músculo liso y de la actividad de la mieloperoxidasa en el estómago. Mobarok et al. 1997, en Arabia Saudita, determinaron que la administración de miel antes de la exposición de la mucosa gástrica a etanol en ratas, disminuye la extravasación de sangre debido a la permeabilidad vascular. Dicho mecanismo sería dependiente de las sustancias no proteínicas sulfhídricas (9).

Gharzouli et al. 2002, en Argelia, hallaron que tanto la miel monofloral a dosis de 2,5 g/kg, la miel polifloral en la misma dosis y un preparado de fructosa, glucosa, sacarosa y maltosa en concentraciones similares a las que se encuentran en la miel, protegieron a la mucosa gástrica contra el efecto ulcerogénico de ácido acetil salicílico y de indometacina, AINEs más gastrolesivos que el piroxicam usado en este estudio (10). Sin embargo, solo evaluaron la longitud macroscópica de la úlcera y no usaron un control positivo ni compararon estadísticamente las distintas intervenciones con miel entre sí (10). En el presente estudio, la miel a la dosis de 2,5 g/kg no presentó efecto gastroprotector. Esto podría explicarse debido a las diferentes características de las flores a partir de las cuales se formó la miel, así mismo del tiempo y la osmolalidad que presentan (27).

Tabla 3. Comparaciones de las medianas del grado de lesión microscópica entre los distintos grupos de ratas albinas Holtzmantras inducción de úlcera gástrica por piroxicam (comparación mediante la prueba de Mann-Whitney).

Comparación		p*
Control normal M _e =0	Control negativo M _e =2	0,0068
	Control positivo M _e =0,5	0,0018
Control negativo M _e =2	Dosis 1 M _e =2	1
	Dosis 2 M _e =2	0,2437
	Dosis 3 M _e =0,5	0,0018
Control positivo M _e =0,5	Dosis 3 M _e =0,5	1

* p<0,05 es significativo.

Alagwu et al. 2011, en Nigeria, realizaron un modelo de consumo prolongado de miel durante 22 semanas para evidenciar un efecto protector contra la exposición aguda a alcohol-ácido ⁽¹¹⁾. La importante diferencia en el área de lesión hallada entre sus grupos experimental y control (1,6 mm² vs 14,5 mm²), sugieren que la miel posee actividad gastroprotectora aún mediante otros regímenes de administración.

Bukhari et al. 2011 diseñaron un estudio con una sola dosis de miel para comprobar sus propiedades curativas, luego las compararon con cimetidina y las reportaron como efectos similares contra las lesiones inducidas por ácido acetilsalicílico ⁽¹²⁾. Aunque también utilizaron un análisis macroscópico y microscópico, no evaluaron la gravedad de daño sino la proporción de ratas sin lesión evidente.

Por otro lado, en Arabia Saudita, Mobarok et al. 2003, muestra que la administración de 0,312 mg/kg de miel en ratas con úlcera gástrica por amonio no presentaba ningún efecto protector, mientras que, cuando la misma dosis era adicionada al tratamiento con sucralfato, se producía un efecto sinérgico ⁽¹⁴⁾. La inconsistencia entre los resultados de este estudio con el de los demás podría estar explicado por la utilización de diferentes modelos de inducción de la úlcera gástrica. El amonio al entrar en contacto con el ácido clorhídrico del estómago forma óxidos de monocloroamina citotóxicos ⁽²⁸⁾, los cuales son neutralizados por la combinación de sucralfato y miel de abeja ya que ambos poseen componentes no proteínicos sulfhídricos de acción antioxidante.

En conclusión, el efecto gastroprotector de la miel está en función del mecanismo por el cual la úlcera sea producida, de las características botánicas y químicas de la miel, en este estudio la miel a dosis 5 g/kg y 7,5 g/kg mostró un efecto gastroprotector similar al omeprazol a nivel macroscópico, pero solo la dosis de 7,5 mg/kg lo hizo a nivel microscópico.

Se sugiere entonces que el efecto gastroprotector de la miel en ratas varía según el del mecanismo por el cual la úlcera sea producida y la composición de la miel. En el presente estudio, la miel a dosis 7,5 g/kg mostró un efecto gastroprotector similar al del omeprazol tanto a nivel macroscópico y microscópico. La miel a dosis de 5 g/kg tuvo un efecto gastroprotector similar al omeprazol, solo a nivel macroscópico.

Agradecimiento:

A la Dra. Angélica Vásquez por su colaboración en el análisis microscópico.

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés de ningún tipo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Eteraf-Oskouei T, Najafi M. [Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: a review](#). Iran J Basic Med Sci. 2013;16(6):731-42.
2. Codex alimentarius commission. [Report of the seventh session of the Codex Committee on Sugars](#). Geneva: WHO; 2001.
3. Khalil MI, Sulaiman SA. [The potential role of honey and its polyphenols in preventing heart diseases: a review](#). Afr J Tradit Complement Altern Med. 2010;7(4):315-21.
4. Alvarez-Suarez JM, Giampieri F, Battino M. [Honey as a source of dietary antioxidants: structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases](#). Curr Med Chem. 2013;20(5):621-38.
5. Ajibola A, Chamunorwa JP, Erlwanger KH. [Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth](#). Nutr Metab (Lond). 2012;9:61.
6. Ber Nieto Y. [Úlcera péptica](#). Medicine. 2012;11(3):137-41.
7. Harirforoosh S, Asghar W, Jamali F. [Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications](#). J Pharm Pharm Sci. 2013;16(5):821-47.
8. Abdo-Francis J. [Úlcera péptica, AINEs y Helicobacter](#). Rev Gastroenterol Mex. 2013;78(1):8-9.
9. Mobarok Ali AT, al-Swayeh OA. [Natural honey prevents ethanol-induced increased vascular permeability changes in the rat stomach](#). J Ethnopharmacol. 1997;55(3):231-8.
10. Gharzouli K, Amira S, Gharzouli A, Khenouf S. [Gastroprotective effects of honey and glucose-fructose-sucrose-maltose mixture against ethanol-, indomethacin-, and acidified aspirin-induced lesions in the rat](#). Exp Toxic Pathol. 2002;54(3):217-21.
11. Alagwu EA, Nneli RO, Egwurugwu JN, Osim EE. [Gastric cytoprotection and honey intake in albino rats](#). Nig J Physiol Sci. 2011;26(1):39-42.
12. Bukhari MH, Khalil J, Qamar S, Qamar Z, Zahid M, Ansari N, et al. [Comparative gastroprotective effects of natural honey, nigella sativa and cimetidine against acetylsalicylic acid induced gastric ulcer in albino rats](#). J Coll Physicians Surg Pak. 2011;21(3):151-6.
13. Al Somal N, Coley KE, Molan PC, Hancock BM. [Susceptibility of Helicobacter pylori to the antibacterial activity of manuka honey](#). J R Soc Med. 1994;87(1):9-12.
14. Ali AT, Al Swayeh OA. [Honey potentiates the gastric protection effects of sucralfate against ammonia-induced gastric lesions in rats](#). Saudi J Gastroenterol. 2003;9(3):117-23.
15. Adinortey MB, Ansah C, Galyuon I, Nyarko A. [In vivo models used for evaluation of potential antigastrointestinal ulcer agents](#). Ulcers. 2013;2013:1-12.
16. Falcão HDS, Maia GLDA, Bonamin F, Kushima H, Moraes TM, Hiruma Lima CA, et al. [Gastroprotective mechanisms of the chloroform and ethyl acetate phases of Praxelis clematidea \(Griseb.\) R.M.King & H.Robinson \(Asteraceae\)](#). J Nat Med. 2013;67(3):480-91.
17. Chandranath SI, Bastaki SM, Singh J. [A comparative study on the activity of lansoprazole, omeprazole and PD-136450 on acidified ethanol- and indomethacin-induced gastric lesions in the rat](#). Clin Exp Pharmacol Physiol. 2002;29(3):173-80.
18. Committee on Pain and Distress in Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research; Commission on Life Sciences; National Research Council. [Recognition and alleviation of pain and distress in laboratory animals](#). Washington, D.C.: National Academy Press; 1992.
19. Khan HA. [Computer-assisted visualization and quantitation of experimental gastric lesions in rats](#). J Pharmacol Toxicol Methods. 2004;49(2):89-95.
20. Izzettin FV, Sancar M, Okuyan B, Apikoglu-Rabus S, Cevikbas U. [Comparison of the protective effects of various antiulcer agents alone or in combination on indomethacin-induced gastric ulcers in rats](#). Exp Toxicol Pathol 2012;64(4):339-43.

21. National Research Council (US); Institute for Laboratory Animal Research. International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. In: The Development of Science-based Guidelines for Laboratory Animal Care: Proceedings of the November 2003 International Workshop. Washington DC: National Academies Press; 2004.
22. Batlouni M. [Antiinflamatorios no esteroides: efectos cardiovasculares, cerebrovasculares y renales](#). Arq Bras Cardiol. 2010;94(4):538-46.
23. Ramirez A. Helicobacter pylori. In: Tópicos selectos en Medicina Interna. 1st ed. Lima: Santa Ana; 2006. p. 177-95.
24. Alagwu EA, Nneli RO, Okwari OO, Osim EE. [Bile secretion in albino rat following chronic honey intake](#). Niger J Physiol Sci. 2009;24(2):203-6.
25. Bogdanov S, Tomislav J, Sieber R, Gallmann P. [Honey for nutrition and health: a review](#). Am J Coll Nutr. 2008;27(6):677-89.
26. Ahmed S, Othman NH. [Honey as a potential natural anticancer agent: a review of its mechanisms](#). Evid Based Complement Altern Med. 2013;2013:829070.
27. Gharzouli K, Gharzouli A, Amira S, Khennouf S. [Prevention of ethanol-induced gastric lesions in rats by natural honey and glucose-fructose-sucrose-maltose mixture](#). Pharmacol Res. 2001;43(5):509.
28. Katos S, Nishiwaki H, Konaka A, Takeuchi K. [Mucosal ulcerogenic action of monochloramine in rat stomachs. Effects of polaprezine and sucralfate](#). Dig Dis Sci. 1997;42(10):2156-63.

Correspondencia:

Isabel Silva Ocas
Mz. G Lt. 22 Urb. Vista Hermosa, 13011. Trujillo, Perú.
E-mail: isilvao@scientiaceri.com