

Efecto de *Plantago major* L. (Plantaginaceae) sobre la capacidad de regeneración de *Girardia festae* (Dugesiiidae)

Effect of *Plantago major* L. (Plantaginaceae) on the regeneration capacity of *Girardia festae* (Dugesiiidae)

Juan Carlos Rodríguez Soto

Laboratorio de Citometría, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II, Trujillo, PERÚ
jrodriguezs@unitru.edu.pe // <https://orcid.org/0000-0002-8166-8859>

Mercy Anali Argomedo Briones

Laboratorio de Citometría, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II, Trujillo, PERÚ
maargomedob@unitru.edu.pe // <https://orcid.org/0000-0001-5498-914X>

Sandra Patricia Marisol Sarmiento Yengle

Laboratorio de Citometría, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II, Trujillo, PERÚ
ssarmiento@unitru.edu.pe // <https://orcid.org/0000-0002-4071-605X>

Marisol Contreras Quiñones

Laboratorio de Citometría, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II, Trujillo, PERÚ
mcontrerasq@unitru.edu.pe // <https://orcid.org/0000-0002-7206-9897>

Marco Reategui Navarro

Laboratorio de Citometría, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II, Trujillo, PERÚ
mreategui@unitru.edu.pe // <https://orcid.org/0000-0001-8494-169X>

William Benjamín Ruiz Chang

Laboratorio de Biología Celular y Molecular y Bioquímica, Universidad Privada Antenor Orrego. Av. América Sur, Trujillo, PERÚ
wruizc@upao.edu.pe // <https://orcid.org/0000-0002-7462-7370>

Roxana Elizabeth Ramírez Reyes

Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad Cesar Vallejo. Av. Larco, Trujillo, PERÚ.
rramirezr@ucv.edu.pe // <https://orcid.org/0000-0002-5905-7509>

Resumen

La investigación estuvo orientada a determinar el efecto de *Plantago major* L. (Plantaginaceae) sobre la capacidad de regeneración de *Girardia festae* (Dugesiiidae), para lo cual se prepararon 5 concentraciones (0%, 25%, 50%, 75% y 100%) del extracto acuoso del vegetal a partir de una proporción de 4g/L. Se desarrolló un diseño experimental en bloques completamente aleatorizado, donde 7 tipos de fragmentos obtenidos por 3 cortes diferentes (superior e inferior; cefálico, medio y caudal; derecho e izquierdo) tomaron el papel de bloques. Luego de ser expuestos a las concentraciones de *Plantago major* L. se procedió a evaluar el tiempo en horas de la regeneración completa de los ejemplares. La microscopía óptica permitió la lectura de los tiempos de regeneración, determinándose que los tratamientos 4 y 5 (75% y 100% de *Plantago major* L. respectivamente) promovieron de manera significativa el proceso de regeneración en *Girardia festae*; asimismo, se observó que el fragmento superior alcanzó la regeneración a individuo completo en menor tiempo (131.6 horas). El análisis de varianza demostró la presencia de diferencias significativas entre los tratamientos y el test de comparación de medias estableció la existencia de diferentes grupos homogéneos.

Palabras clave: *Girardia festae*, *Plantago major* L., regeneración.

Abstract

The research was aimed at determining the effect of *Plantago major* L. (Plantaginaceae) on the regeneration capacity of *Girardia festae* (Dugesiiidae), for which 5 concentrations (0%, 25%, 50%, 75% and 100%) of aqueous extract of the plant were prepared from a proportion of 4g/L. A completely randomized block experimental design was developed, where 7 types of fragments took the role of blocks and were obtained by 3 different cuts (upper and lower; cephalic, middle and caudal; right and left). After being exposed to concentrations of *Plantago major* L., the time in hours of complete regeneration of the specimens was evaluated. Optical microscopy allowed the reading of regeneration times, determining that treatments 4 and 5 (75% and 100% of *Plantago major* L. respectively) significantly promoted the regeneration process in *Girardia festae*; likewise, it was observed that the upper fragment reached regeneration to a complete individual in less time (131.6 hours). The variance analysis showed the presence of significant differences between the treatments and the mean comparison test established the existence of different homogeneous groups.

Keywords: *Girardia festae*, *Plantago major* L., regeneration.

Citación: Rodríguez, J.; M. Argomedo; S. Sarmiento; M. Contreras; M. Reategui; W. Ruiz & R. Ramírez. 2022. Efecto de *Plantago major* L. (Plantaginaceae) sobre la capacidad de regeneración de *Girardia festae*. *Arnaldoa* 29(1): 177-184 doi: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.291.29111>

Introducción

Todos los seres vivos sufren accidentes como quemaduras, rupturas de tejidos o intervenciones quirúrgicas que causan diversas heridas y/o cicatrices. La necesidad en atender biológicamente las heridas graves y complejas, convierte este tema en la motivación de muchos investigadores que buscan un tratamiento eficaz, rápido y económico. El estudio de sustancias

inorgánicas y orgánicas completamente efectivas sigue siendo un misterio científico, principalmente porque la curación es un proceso complejo que involucra muchos eventos para lograr buenos resultados (Salazar, 2014; Asto, 2015).

En términos del sistema de salud, el cuidado de heridas implica una inversión económica importante. En Estados Unidos, cerca de 6,5 millones de personas reportan

lesiones crónicas, representando un costo anual de \$25 mil millones (Bauer *et al.*, 2019; Sen *et al.*, 2009). En Latinoamérica, Colombia reporta una tasa de lesiones en la piel de 2.213% por 5000 ciudadanos. Brasil y México reportan estadísticas ligeramente superiores, pero con costos mensuales altamente elevados. En el Perú atienden el 60% de pacientes con heridas son hospitalizados, esto equivale a 11016 pacientes con heridas crónicas no resueltas cada año que requieren tratamiento especializado (Casado, 2020).

La curación de una herida constituye un proceso complejo y ordenado. Para los traumatismos mecánicos abiertos (heridas), se debe considerar tanto la restauración del estado original, como el cierre de la misma mediante la adhesión de los bordes con tejido conectivo reparador (cicatrización) y recubrimiento epitelial (regeneración) (García, 2021; Panarbo, 2016).

Dentro de las diversas terapias para el tratamiento de las heridas, existe la terapia botánica mediante el uso medicinal de las plantas, con múltiples reportes académicos de manera positiva en diferentes partes del mundo (Quintana & Santa María, 2019). En el Perú existen muchas plantas nativas e introducidas, con conocida propiedad curativa de manera ancestral o folclórica, pero aún no han sido estudiadas a través de diseños experimentales que permitan brindar un sustento académico a dichas propiedades. Una planta en estudio es *Plantago major* L. "llantén" (Al-jumaly *et al.*, 2012), que tiene estudios positivos sobre actividad antiinflamatoria (Arias, 2018) pero no se reportes estudios de actividad cicatrizante o sobre regeneración.

El alto contenido en taninos en *P. major* teóricamente le brinda propiedades cicatrizantes y hemostáticas; asimismo,

presenta la alantoína, sustancia con propiedades que estimula el crecimiento de las células epidérmicas (Kobeasy, 2011); toda esta información nos permite tener la base para el desarrollo de diseños experimentales que puedan profundizar el beneficio que podría brindar esta planta en temas de regeneración de tejidos.

Para abordar un estudio en regeneración de tejidos la primera línea emplea modelos biológicos. Dentro de los modelos biológicos ideales para estudios de regeneración se señala a los platelmintos por su natural alta capacidad regenerativa. En el Perú se cuenta con la planaria *Girardia festae* donde se ha comprobado diferentes sustancias orgánicas e inorgánicas que reportan promoción de la regeneración de tejidos (Pinto, 2020; Cornejo *et al.*, 2020).

Frente a ello, la presente investigación buscó determinar el efecto de cinco concentraciones del extracto acuoso de hojas de *Plantago major* L. sobre la capacidad de regeneración *Girardia festae*, un modelo biológico ideal en el estudio de temas de regeneración de tejidos.

Material y métodos

Se colectaron ejemplares de *Girardia festae* en cuerpos de agua (-8.108014, -78.939049) de la zona de Conache, Distrito Laredo, Provincia de Trujillo, libres de laceración alguna a simple vista y con una longitud entre 15 a 17mm. La identificación taxonómica estuvo a cargo de la Sección de Zoología de la Universidad Nacional de Trujillo. La crianza y evaluación de los especímenes se realizó en el Laboratorio de Citometría; la alimentación utilizó hígado de pollo, aireación 2horas/día y una renovación de agua interdiaria. Se registró una humedad relativa de 82% y una temperatura promedio 20°C.

La recolección de *Plantago major* L. (Plantaginaceae) “llantén” se realizó en la Estación Experimental de Bioquímica Aplicada en la Universidad Nacional de Trujillo. Las muestras obtenidas fueron herborizadas e identificadas en el Herbario Truxillense (HUT) con código de depósito 60993.

Para la obtención del extracto acuoso de *Plantago major* L., se pesó 30 gramos de hojas secadas previamente a estufa a 65°C por 24 horas. Se preparó el decocto, manteniendo la ebullición por 10 minutos, y luego se procedió a preparar diluciones al 25%, 50%, 75% y 100% que asumirán el papel de tratamientos (Ángulo, 2018; Herrera, 2018; León, 2016; Al-jumaly et al., 2012).

Previa aplicación de los tratamientos se procedió a obtener los diferentes fragmentos

de *Girardia festae* seleccionándose 350 fragmentos obtenidos por corte transversal (fragmentos superior e inferior), doble transversal (fragmentos cefálico, medio y caudal) y longitudinal (fragmento derecho e izquierdo). La aplicación de las diferentes concentraciones de *P. major* a los diferentes tipos de fragmentos de *G. festae* fue por 7 minutos, pasados los cuales se procedió a individualizar cada fragmento en tubos de ensayo donde se realizó el seguimiento hasta su regeneración total a individuo completo. Empleando microscopía óptica se realizaron tomas fotográficas del proceso regenerativo utilizando el software AmScope a 10x de aumento. Con los datos obtenidos se realizó el análisis de varianza y test de comparación de medias empleando el paquete estadístico Statgraphics Plus Versión 18.0 (Herrera, 2018).

Resultados y discusión

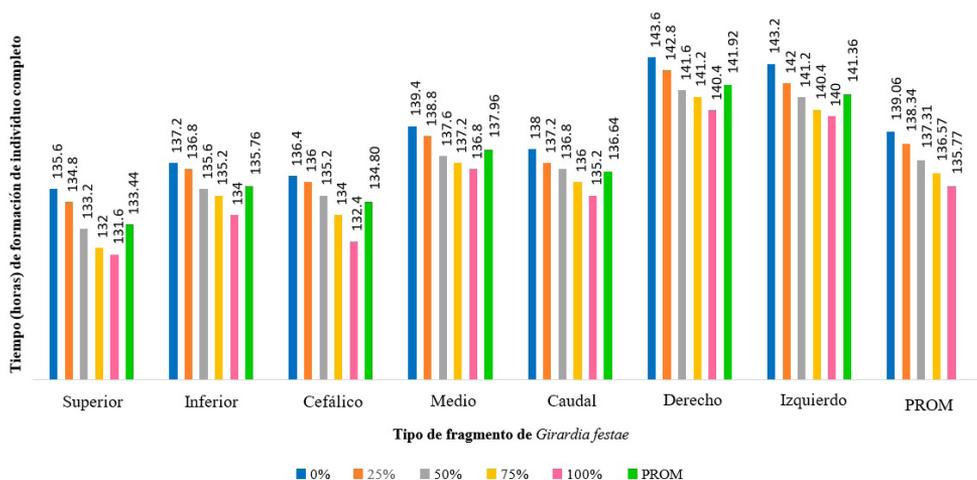


Fig. 1. Tiempo de regeneración de diferentes fragmentos de *Girardia festae* por efecto de diferentes concentraciones de extracto acuoso de *Plantago major* L. “llantén”.

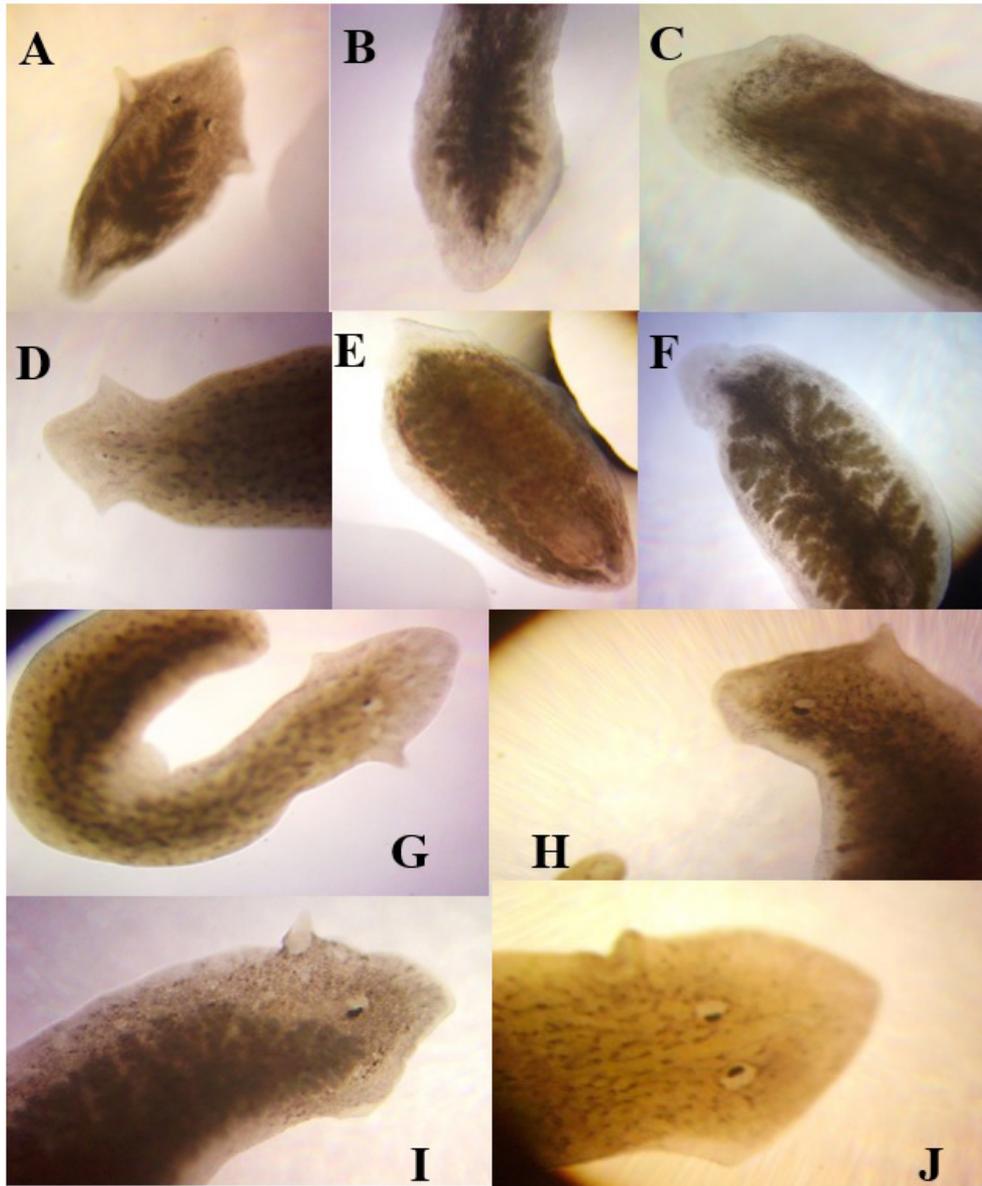


Fig. 2. Regeneración de *Girardia festae*, A-B. Fragmento superior; C-D. Fragmento inferior; E-F. Fragmento medio; G-H. Fragmento derecho; I-J. Fragmento izquierdo.

Las planarias *Girardia festae* pueden sufrir cambios drásticos en el tamaño del cuerpo por diferente tipo de injuria e incluso así llegar a regenerar su organismo completo. Esta notable capacidad de regeneración las convirtió en el modelo biológico ideal para analizar fenómenos como la morfogénesis, polaridades y restauración de patrones y la homeostasis tisular. Esta capacidad reside en ellas ya que cuentan con células pluripotentes que pueden dar lugar a los diferentes tipos de células diferenciadas (Saló *et al.*, 2009), por este motivo son utilizadas en diversos estudios para medir su capacidad de regeneración cuando se enfrentan a diferentes agentes biológicos (Urritia, 2015; Veliz, 2017; Zavala, 2017).

Cuando hay una lesión celular, se inicia dentro de *Girardia festae* una cascada de interacciones bioquímicas y celulares, guiadas por la actividad de múltiples agentes químicos que provocan cambios; sin embargo, la respuesta inflamatoria es el evento que químicamente determina el inicio y la señalización del proceso de regeneración del tejido lesionado (Cornejo *et al.*, 2020; León *et al.*, 2015).

En la Figura 1 se muestran los tiempos en horas de lo que demandó la regeneración completa de especímenes de *Girardia festae* a partir de siete tipos diferentes de fragmentos y frente a la exposición de cinco concentraciones diferentes de *Plantago major* L., contabilizando 10 repeticiones para cada tratamiento dentro de cada bloque, con un total de 350 unidades experimentales. En la figura se logra observar dentro de cada uno de los bloques (tipo de fragmentos) un comportamiento indirectamente proporcional, donde a mayor concentración de *P. major*.

En la misma Figura 1, se observa que los fragmentos que contienen los ganglios

cerebrales (fragmento superior y cefálico) regeneran en menor tiempo (133.44 y 134.80 horas respectivamente) que los otros tipos de fragmentos; ello haría notorio que la capacidad de regeneración está asociada a la actividad nerviosa cerebral (Pinto, 2020). Asimismo, se logra determinar que los fragmentos obtenidos por corte longitudinal son los que demandan mayor tiempo de regeneración (141,92 y 141,36 horas); lo que coincide con diferentes investigaciones que emplearon estimulantes de la regeneración celular de tipo orgánico como inorgánico (Cornejo *et al.*, 2020; Pinto, 2020; Ángulo, 2018).

El análisis de varianza determinó la presencia de diferencias significativas dentro de cada bloque, y el posterior test de comparación de medias determinó que cada concentración de *P. major* se considera un grupo homogéneo diferente; demostrándose una significativa significancia de una concentración a otra, y para cada uno de los tipos de fragmentos de *G. festae*.

La Figura 2 nos muestra la regeneración de los diferentes fragmentos de *G. festae*. En la imagen A y B, se aprecia el desarrollo del fragmento inferior a partir del superior, apreciándose una pronta y mejor delimitación de bordes, en tanto las imágenes C y D señalan la regeneración del fragmento superior a partir del fragmento inferior, donde se aprecia la formación de la parte cefálica de espécimen sin pigmentación temprana, ello obedecería a lo complejo que es regenerar los nervios craneales. Los fragmentos E y F, nos muestran la regeneración de los fragmentos medios, donde de manera precisa por señalización molecular los fragmentos regeneran la parte cefálica y la parte caudal en los extremos correspondientes, regenerándose más rápido la parte cefálica.

Conclusión

El extracto acuoso de *Plantago major* L., a las concentraciones trabajadas, manifiestan un efecto significativamente positivo en la capacidad de regeneración de la planaria *Girardia festae*, a mayor concentración del extracto acuoso el tiempo de regeneración disminuye.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Trujillo por el uso de la infraestructura y equipamiento para la ejecución del presente proyecto a través del Laboratorio de Citometría de la Facultad de Ciencias Biológicas.

Contribución de los autores

JC: Concepción de la idea, análisis e interpretación de los resultados y aprobación de la versión final. MA: Ejecución de la parte experimental y redacción del informe. SS: Ejecución de la parte experimental y redacción del informe. MC: Manejo estadístico de los resultados. MR: Redacción de la discusión y revisión final. WR: Redacción de la discusión y revisión final. RR: Redacción de la discusión y revisión final. Todos los autores han leído el manuscrito final y aprobado la revisión.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses

Literatura citada

- Al-jumaly, E.; H. Abdul-Ratha & R. Raheema. 2012. Extraction and purification of tannins from *Plantago lanceolata* L. and assessment their antibacterial activity on pathogenesis of enteropathogenic *E. coli* in vitro and in vivo. *Trends in life sciences*, 1(1): 17-21.
- Angulo, C. 2018. Capacidad de regeneración de *Dugesia tigrina* expuesta a diferentes concentraciones de *Thymus vulgaris*. Tesis para optar título universitario. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo.
- Arias G. 2018. Evaluación del efecto cicatrizante de los preparados tópicos a partir de *Plantago major* "llantén" en *Rattus rattus* var. *albinus*. Tesis para optar título universitario. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, Cajamarca- Perú.
- Asto, S. 2015. Evaluación de la actividad cicatrizante de extractos de hojas de "llantén" de páramo (*Plantago australis*) en lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*). Tesis para optar Título. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador.
- Bauer, T.; L. Moreno; J. Oviedo & L. Rojas. 2019. Perfil de los factores de riesgo asociado a la aparición de la primera infección intrahospitalaria en pacientes con quemaduras de segundo y tercer grado atendidos en el pabellón de Quemados de la unidad de servicios de Salud U.S.S. Simón Bolívar. Tesis para optar título universitario. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Lima.
- Casado, F. 2020. Análisis del potencial de innovación en apósitos para tratar heridas crónicas en la ciudad de Lima, Perú. *Revista de la Facultad de Medicina Humana*, 20(4), 657-661.
- Cornejo, B.; J. Rodríguez; M. Contreras; C. Aspajo; A. Calderón; E. León; C. Escobedo; C. Aldama; J. Agreda & M. Valverde. 2020. Regeneración en *Girardia* sp. (Dugesidae) por efecto de nanopartículas de cobre sintetizadas por ablación láser. *Arnaldoa* 27 (1):229-236 <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.271.27113>
- García, I. 2021. Fundamentos de Cirugía para el grado de Medicina: Proceso de reparación de las heridas. (3.ª ed.). Universidad del País Vasco.
- Herrera, E. 2018. Capacidad de regeneración de *Dugesia tigrina* expuesta a diferentes concentraciones de *Pelargonium roseum*. Tesis para optar título universitario. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo.
- León, M.; A. Alvarado; J. De Armas; L. Miranda; J. Varens & J. Cuesta. 2015. Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares: cifras alarmantes. *Revista Finlay*, 5(1): 47-62.
- León, E. 2016. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* (llantén menor) sobre la úlcera gástrica inducida en ratas. Tesis de Posgrado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

- Kobeasy, M. I.; O. M. Abdel Fatah; S. M. Abd El-Salam & Z. M. Mohamed.** 2011. Biochemical studies on *Plantago major* L. and *Cyamopsis tetragonoloba* L. International Journal of Biodiversity and Conservation, 3(3): 83-91.
- Pancorbo, P.** 2016. Investigación sobre las heridas. Gerokomos, 27(3): 89-90
- Pinto, E.** 2020. Descripción comparada de la regeneración en planarias acuáticas de bosque montano y páramo. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Católica de Ecuador.
- Quintana, V. & C. Santa María.** 2019. Efecto cicatrizante de látex *Sinademiun grantii hook (Árbol de la vida) en ratones albinos (Mus musculus)*. Tesis de Licenciatura. Universidad María Auxiliadora, Lima.
- Saló, E., J. F. Abril; T. Adell; F. Cebricá; K. Eckelt; E. Fernández & G. Rodríguez.** 2009. Planarian regeneration: achievements and future directions after 20 years of research. International Journal of Developmental Biology, 53(8), 1317.
- Sen, C. K.; G. M. Gordillo; S. Roy; R. Kirsner; L. Lambert; T. K. Hunt *et al.*** 2009. Human skin wounds: a major snowballing threat to public health and the economy. Wound Repair Regen. 17(6):763-71.
- Urrutia, A.** 2015. Efecto de *Plukenetia volubilis* (Sacha Inchi), *Smallanthus sonchifolius* (Yacón) y *Aloe vera* en el proceso regenerativo de *Dugesia* sp. Tesis para Título. Universidad Nacional San Agustín, Arequipa.
- Véliz, C.** 2017. Contenido de compuestos fenólicos totales, potencial antioxidante, factor de protección solar y capacidad regeneradora de la cáscara de *Mussa* sp. "plátano". Tesis para Título. Universidad Nacional de Trujillo.
- Zavala, E.** 2017. Capacidad antioxidante, regeneradora y factor de protección solar de la cáscara de *Mangifera indica* L. "mango". Tesis para optar título universitario. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo