



Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas

ISSN: 1870-0195

rmcf@afmac.org.mx

Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C.

México

Arrieta, Jesús; Reyes-Trejo, Benito; Reyes-Ramírez, Adelfo; Sánchez-Mendoza, María Elena
Papel de los grupos sulfhidrilos, las prostaglandinas y el óxido nítrico endógeno, en la
gastroprotección del lanosterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en rata
Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, vol. 40, núm. 3, julio-septiembre, 2009, pp. 17-21
Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C.
Distrito Federal, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57912963004>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Trabajo Científico

Papel de los grupos sulfhidrilos, las prostaglandinas y el óxido nítrico endógeno, en la gastroprotección del lanosterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en rata

Roles of sulfydryls, prostaglandins and endogenous nitric oxide, in gastroprotection by lanosterol on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rat

Jesús Arrieta^a, Benito Reyes-Trejo^b, Adelfo Reyes-Ramírez^c, Juan Rodríguez-Silverio^a,
María Elena Sánchez-Mendoza^{a*}

^aEscuela Superior de Medicina. Instituto Politécnico Nacional.

^bLaboratorio de Productos Naturales, Área de Química, Universidad Autónoma Chapingo

^cFacultad de Estudios Superiores Zaragoza

Resumen

En el presente trabajo se evaluó la actividad gastroprotectora del lanosterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas. El lanosterol a las dosis de 3, 10, 30 y 100 mg/kg presentó un 26, 33, 51 y 59 % de gastroprotección, respectivamente. La gastroprotección fue atenuada por N-etilmaleimida (10 mg/kg, s.c.) lo que sugiere una participación de los grupos sulfhidrilos. Sin embargo, el efecto gastroprotector no fue afectado por el éster metílico de la N^G-nitro-L-arginina (70 mg/kg, i.p.) o indometacina (10 mg/kg, s.c.) lo que indica que el NO y las prostaglandinas no participan de manera importante en su mecanismo de acción. Como fármaco de referencia se utilizó carbenoxolona y los resultados obtenidos coinciden con lo reportado en la literatura.

Abstract

The lanosterol activity was evaluated on gastric mucosal damage induced in rats by ethanol. Lanosterol at 3, 10, 30 and 100 mg/kg showed 26, 33, 51 and 59 % gastroprotection, respectively. The gastroprotection of this compound was attenuated with N-ethylmaleimide (10 mg/kg) suggesting that the gastroprotective mechanism of this compound is due at least in part to the participation of sulfhydryl groups. The gastroprotective effect of lanosterol was not affected by N^G-nitro-L-arginine methyl ester (70 mg/kg) nor indometacin (10 mg/kg), indicating that nitric oxide and prostaglandins seem to have little participation in the mechanism of gastroprotection of lanosterol. Carbenoxolone was used as a gastroprotective model drug and the results obtained in the current study are in agreement with those previously reported.

Palabras clave: gastroprotección, úlcera péptica, lanosterol

Key words: gastroprotection, peptic ulcer, lanosterol

Correspondencia:

Dra. María Elena Sánchez-Mendoza
Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional.
Plan de San Luis y Díaz Mirón. Colonia Santo Tomás, Delegación Miguel Hidalgo 11340, México D.F., México.
Teléfono: +(55) 57 29 63 00 Ext. 62 827
Fax: +(55) 56 22 53 29
e-mail: mesmendoza@hotmail.com

Fecha de recepción: 30 de mayo de 2009
Fecha de recepción de modificaciones: 18 de septiembre de 2009
Fecha de aceptación: 20 de septiembre de 2009

Introducción

La úlcera gastroduodenal es una enfermedad crónica y recurrente que se caracteriza por la presencia de escoriaciones en la mucosa, que son debidas a la acción del jugo gástrico. Se ha establecido que se origina cuando existe un desequilibrio entre los factores agresivos y los factores de defensa de la mucosa gástrica¹. Dentro de los factores agresivos, se encuentran el ácido clorhídrico, la pepsina, la bilis, algunos ingredientes alimenticios, productos bacterianos y ciertos fármacos. Estos agentes disminuyen el flujo sanguíneo, suprimen la generación de prostaglandinas, inhiben el crecimiento de la mucosa y la proliferación celular, además de modificar la motilidad gástrica². Por otro lado, para contrarrestar el daño, el organismo dispone de mecanismos protectores, los cuales se dividen en factores funcionales, humorales y neuronales. Dentro de los factores funcionales se encuentran la secreción de moco, la microcirculación y la motilidad, en tanto que las prostaglandinas y el óxido nítrico corresponden a factores humorales y finalmente las neuronas sensibles a capsaicina constituyen los factores neuronales^{2,3}. La terapia enfocada al tratamiento de la úlcera gastroduodenal ha progresado a lo largo del tiempo, desde la vagotomía, los fármacos anti-colinérgicos, los antagonistas de los receptores de histamina tipo H₂, y los anti-ácidos hasta llegar en la actualidad al uso de los inhibidores de la bomba de protones. Asimismo se ha incrementado el interés por terapias alternativas y en especial por productos naturales derivados de plantas⁴.

Dentro de tales productos, se encuentran varios triterpenos y esteroides que presentan actividad gastroprotectora. Considerando lo anterior el presente trabajo se encaminó a evaluar el efecto gastroprotector del lanosterol. Adicionalmente también se estudió el papel de los grupos sulfhidrilos, las prostaglandinas y el NO en el mecanismo de acción gastroprotector del lanosterol.

Material y métodos

Animales

Todos los experimentos fueron realizados utilizando ratas Wistar macho, de un peso de 180-220 g, obtenidas de la Escuela Superior de Medicina (IPN). Los procedimientos donde se involucraron animales fueron efectuados de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para el uso y cuidado de animales de laboratorio (NOM-062-Z00-1999) y en conformidad con las normas internacionales para el cuidado y uso de los animales (National Research Council, 1996). Los animales se colocaron de manera individual en jaulas con piso de alambre para evitar la coprofagia, tuvieron libre acceso al agua pero fueron privados de alimento 24 horas antes de iniciar con los experimentos. Las evaluaciones fueron realizadas usando lotes de 7-10 animales por grupo.

Fármacos

La indometacina, carbenoxolona, éster metílico de N^G-nitro-L-arginina (L-NAME, 98 % de pureza), N-etilmaleimida (NEM, 98 % de pureza) y el lanosterol se adquirieron de Sigma Aldrich Corporation. La carbenoxolona se usó como fármaco gastroprotector de referencia. Los fármacos se disolvieron o suspendieron en el vehículo correspondiente, minutos antes de realizar los experimentos. Las ratas control recibieron únicamente los vehículos en el mismo volumen y por la misma vía.

Lesiones gástricas inducidas por etanol

Las lesiones gástricas fueron inducidas de acuerdo al método descrito por Robert⁵, por la administración intragástrica de etanol absoluto (1 mL). Los fármacos se administraron por vía oral (0.5 mL/100 g) 30 minutos antes de la administración del etanol. Dos horas después de la administración del etanol, los animales se sacrificaron en una cámara de CO₂. De forma inmediata se realizó la disección de los estómagos, los cuales se llenaron con 10 mL de formaldehído al 2 %, posteriormente se colocaron en un recipiente con formaldehído por espacio de 10 minutos con el objeto de fijar tanto la capa externa como interna del estómago, a continuación fueron abiertos a lo largo de su curvatura mayor. El área dañada (mm²) se midió con la ayuda de un microscopio estereoscópico (x10) provisto de un micrómetro ocular, la suma del área de todas las lesiones del corpus de cada animal representó el índice de úlcera (IU) y la gastroprotección se calculó en por ciento de acuerdo a la relación:

$$\% \text{ de gastroprotección} = (\text{UIC} - \text{UIT}) \times 100/\text{UIC}.$$

Donde: UIC es el índice de úlcera control y UIT es el índice de úlcera de los animales tratados⁶.

Lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pre-tratadas con NEM

Para determinar la participación de los grupos sulfhidrilos se administró 10 mg/kg de NEM (0.1 mL/100 g) disuelto en una solución salina al 0.9 % por vía subcutánea⁷. Después de 30 minutos se administró por vía oral 100 mg/kg de lanosterol o carbenoxolona, 30 minutos después se dio 1 mL de etanol absoluto y se continuó con el método descrito por Robert⁵. En esta evaluación se incluyeron dos grupos control, a uno se le administró el vehículo más etanol y al otro NEM más etanol.

Lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pre-tratadas con indometacina

Para demostrar la participación de las prostaglandinas se administró por vía subcutánea 10 mg/kg de indometacina (0.1 mL/100 g) disuelta en una solución de NaCl al 0.9 % conteniendo 5 % de NaHCO₃⁸. Transcurridos 75 minutos se les administró por vía oral lanosterol o carbenoxolona, y 30 minutos después 1 mL de etanol absoluto a cada rata. De ahí en adelante se continuó con el método descrito anteriormente. A un grupo control se le

administró el vehículo más etanol y a un segundo grupo indometacina más etanol.

Lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pre-tratadas con L-NAME

Para investigar la participación del NO en el efecto gastroprotector de los compuestos de prueba, los animales fueron tratados con L-NAME (70 mg/kg, i.p., 0.1 mL/100 g), 30 minutos antes de la aplicación de lanosterol o carbenoxolona⁷, 30 minutos después se administró etanol a cada grupo de ratas, 2 horas después los animales fueron sacrificados y se determinó el índice de úlcera. En esta prueba se incluyeron dos grupos controles uno tratado con etanol y el otro con L-NAME más etanol.

Estadística

Los datos se presentan como el promedio $\pm$ el error estándar de la media de 7-10 animales por grupo. Las diferencias entre los tratamientos fueron analizadas con la prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de múltiples comparaciones de Dunn's. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas para un valor de $p \leq 0.05$.

Resultados y discusión

El lanosterol (3-100 mg/kg) redujo las lesiones gástricas de manera dependiente de la dosis cuando se comparó con su respectivo grupo control (figura 1A). El máximo porcentaje de inhibición de las lesiones gástricas que se alcanzó con la administración de lanosterol fue de 59.75 ± 8.63 % a la dosis de 100 mg/kg.

De manera similar, la carbenoxolona presentó un efecto dependiente de la dosis (3-100 mg/kg) sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol (figura 1B). El máximo porcentaje de gastroprotección obtenido para la carbenoxolona fue de 66.20 ± 8.71 % con la dosis de 100 mg/kg, lo que indica que es un poco más potente que el lanosterol.

Los IU de las ratas tratadas con 10 mg/kg de NEM (111.66 ± 11.63 mm², figura 2A), 10 mg/kg de indometacina (125.07 ± 11.08 mm², figura 2B), y 70 mg/kg de L-NAME (72.20 ± 4.16 mm², figura 2C) no fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) cuando se compararon con sus respectivos grupos controles de vehículos (85.30 ± 9.12 , 115.04 ± 13.86 y 94.42 ± 7.72 mm²). En trabajos previos⁶ ha quedado establecido que las dosis de los inhibidores empleadas en el presente estudio, permiten el bloqueo de los grupos sulfhidrilos, inhiben a las ciclooxigenasas y a la sintasa de NO sin producir úlceras o agravar las ya existentes⁹.

En ratas pre-tratadas con NEM (figura 2A) los IU del lanosterol (93.41 ± 9.61 mm²) y de la carbenoxolona (78.41 ± 9.47 mm²) fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) cuando se compararon con los valores alcanzados en las ratas que no recibieron NEM (28.28 ± 6.07 y 27.04 ± 7.06 mm², respectivamente), lo cual sugiere que el pre-tratamiento con NEM atenúa el efecto gastroprotector tanto del lanosterol como de la carbenoxolona ya que no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los IU de las ratas pre-tratadas con NEM y el grupo control de NEM (111.66 ± 11.63 mm²).

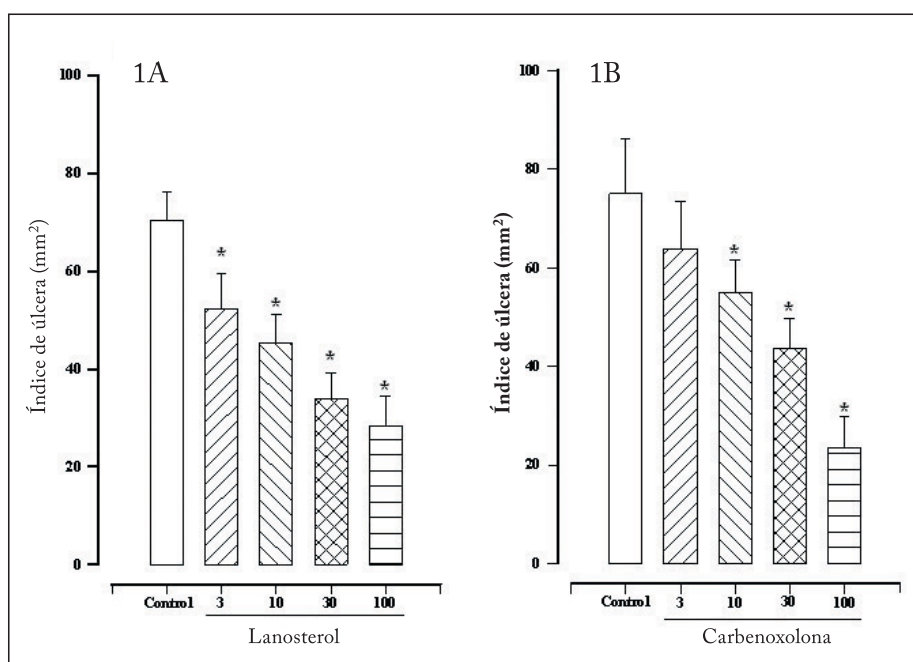


Figura 1. Efecto gastroprotector de las diferentes dosis de: (1A) lanosterol y (2B) carbenoxolona sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas. Cada barra representa el promedio $\pm$ E.E.M. ($n = 7-10$) * $p < 0.05$ comparado con su respectivo control. El índice de úlcera para esta evaluación fue de 70.28 ± 5.78 . Prueba de Kruskal-Wallis seguido de la prueba de múltiples comparaciones de Dunn's.

Después del pre-tratamiento con indometacina (10 mg/kg) o L-NAME (70 mg/kg), los IU obtenidos para el lanosterol fueron de 50.55 ± 12.55 y 33.8 ± 1.06 mm², respectivamente. Los IU anteriores, no difieren del daño que presentaron las ratas tratadas únicamente con lanosterol (28.28 ± 6.07 mm²), lo que sugiere que la presencia de indometacina o L-NAME, no modifica el efecto gastroprotector de este compuesto. Al comparar los IU de las ratas pre-tratadas con sus correspondientes grupos controles de indometacina (125.07 ± 11.08 mm²) y L-NAME (72.20 ± 4.16 mm²) se encontró diferencia estadística (figura 2B y 2C).

Por otro lado, los índices de úlcera obtenidos por la administración de carbenoxolona (27.04 ± 7.06 mm²) antes y después del pre-tratamiento con indometacina (74.65 ± 9.47 mm²) o L-NAME (78.41 ± 9.47 mm²) se encontró diferencia estadística ($p < 0.05$), lo que indica que tanto las prostaglandinas como el NO están involucrados en su mecanismo de acción (figura 2B y 2C).

En estudios previos se ha reportado que varios triterpenos y esteroides poseen actividad anti-ulcerosa, adicionalmente este tipo de compuestos presentan un grupo hidroxilo (libre o derivado) en el C3, cuya presencia se ha sugerido que es necesaria para que puedan actuar como gastroprotectores⁹. En el presente trabajo, se reporta por primera vez actividad gastroprotectora para el triterpeno lanosterol, compuesto que presenta un grupo hidroxilo libre en el C3 y con ello se corrobora la propuesta estructural planteada por Arrieta⁹.

Considerando que el lanosterol es un precursor del colesterol, y que anteriormente se ha reportado actividad anti-ulcerosa para el glucósido de colesterol¹⁰, los resultados obtenidos plantean las bases para estudios futuros que relacionen niveles de colesterol y úlcera gástrica.

Generalmente la progresión del daño en la mucosa gástrica se acompaña por un decrecimiento en la concentración de grupos sulfhidrilos. Los grupos sulfhidrilos protegen a la mucosa gástrica, ya que participan en la producción de moco^{11,12}, además se unen a los radicales libres y de esta forma evitan su acción nociva¹¹. Por otro lado, la unión de las glicoproteínas (presentes en la mucosa) con lípidos y mucina participan en procesos involucrados en la eliminación de radicales libres¹³, que permiten un equilibrio entre factores agresivos y protectores. Investigando la participación de los grupos sulfhidrilos en el efecto gastroprotector del lanosterol, se encontró que su actividad es inhibida al administrar previamente NEM (figura 2A), un bloqueador de grupos sulfhidrilos, lo que sugiere que los grupos sulfhidrilos participan en su mecanismo de acción, probablemente eliminando los radicales libres presentes en la mucosa gástrica.

Las prostaglandinas y el óxido nítrico presentaron poca participación en el mecanismo de gastroprotección del lanosterol, debido a que la actividad de este compuesto no fue modificada por la administración previa de indometacina o por L-NAME, inhibidores de las ciclooxigenasas y de la sintasa de NO

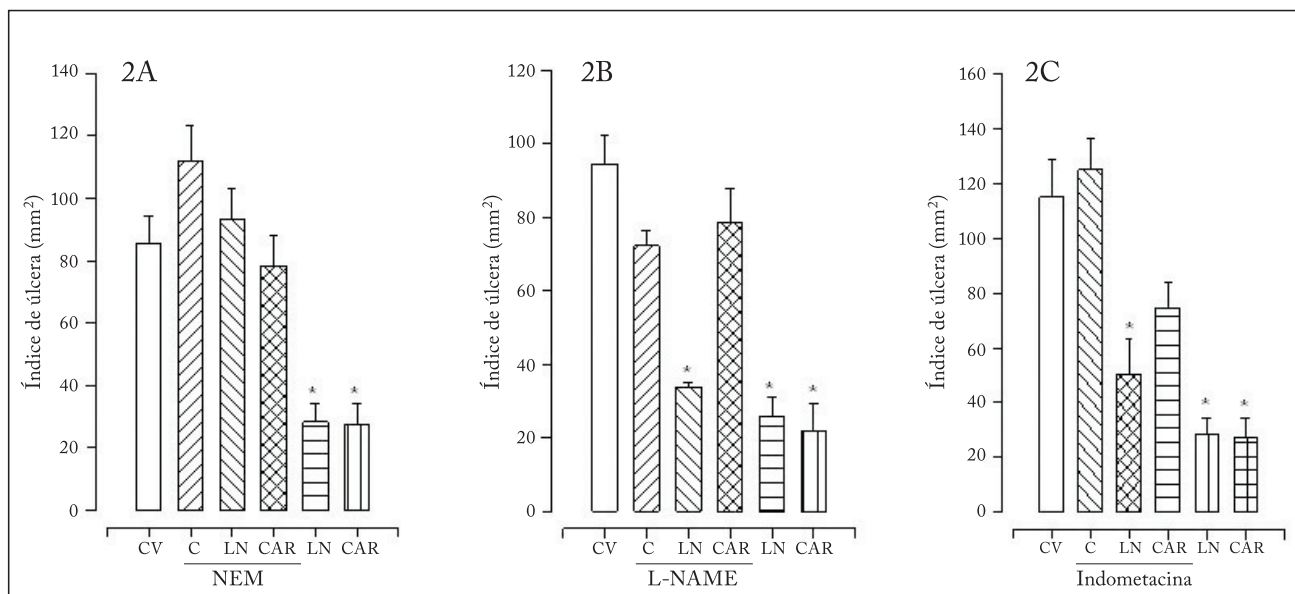


Figura 2. Efecto gastroprotector del lanosterol (LN) y carbenoxolona (CAR) a la dosis de 100 mg/kg sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pre-tratadas con: (2A) NEM (10 mg/kg), (2C) indometacina (10 mg/kg) o (2B) L-NAME (70 mg/kg). Cada barra representa el promedio $\pm$ E.E.M. ($n = 7-10$) * $p < 0.05$ comparado con su respectivo control. Prueba de Kruskal-Wallis seguido de la prueba de múltiples comparaciones de Dunn's.

respectivamente^{8,14}. Al parecer los grupos sulfhidrilos son uno de los principales factores involucrados en el mecanismo protector del lanosterol. Sin embargo, existen otros factores tales como las neuronas sensibles a capsaicina y el factor de crecimiento epidérmico que no fueron explorados en este trabajo, por lo que aún queda pendiente descartar o verificar otros mecanismos de acción, tal como sucede con otros triterpenos¹³.

Los resultados obtenidos para la carbenoxolona coinciden con lo reportado en estudios anteriores, donde se menciona una implicación de las prostaglandinas, el óxido nítrico y los grupos sulfhidrilos en su mecanismo de acción⁶.

Conclusión

En este trabajo se demostró que el lanosterol presenta actividad gastroprotectora, y en su mecanismo de acción se encuentran involucrados los grupos sulfhidrilo. Con respecto a la participación del óxido nítrico y a las prostaglandinas, al parecer su participación es mínima.

Bibliografía

1. Falcão H., Mariath I., Diniz M., Batista L., Barbosa-Filho J. 2008. Plants of the american with antiulcer activity. *Phytomedicine*, 15(1-2):132-146.
2. Tsukimi Y., Okabe S. 2001. Recent advances in gastrointestinal pathophysiology: role of heat shock proteins in mucosal defense and ulcer healing. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 24(1):1-9.
3. Calatayud S., Borrachina M., Espulgues J. 2001. Nitric oxide: relation to integrity, injury, and healing of the gastric mucosa. *Microscopy Research and Technique*, 53(5):325-335.
4. Yesilada E., Bedir E., Calis I., Takaishi Y., Ohmoto Y. 2005. Effects of triterpenes from *Astragalus* species on in vitro cytokine release. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1-2):71-77.
5. Robert A. 1979. Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterology*, 77(4 pt1):761-767.
6. Reyes-Trejo B., Sánchez-Mendoza M., Becerra-García A., Cedillo-Portugal E., Castillo-Henkel C., Arrieta J. 2008. Bioassay-guided isolation of an anti-ulcer diterpenoid from *Croton reflexifolius*: role of nitric oxide, prostaglandins and sulfhydryls. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60(7):931-936.
7. Matsuda H., Li Y., Yosikawa M. 1999. Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulfhydryls and prostaglandins in gastroprotection by momordin Ic, an oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats. *Life Sciences*, 65(2):PL 27-PL32.
8. Wan B., Gottfried S. 1985. Cytoprotective action of carbenoxolone sodium on ethanol-induced gastric lesions in rats and its inhibition by indomethacin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 37(10):739-741.
9. Arrieta J., Benitez J., Flores E., Castillo C., Navarrete A. 2003. Purification of gastroprotective triterpenoids from the stem bark of *Amphiterygium adstringens*: role of prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and capsaicin-sensitive neurons. *Planta Medica*, 69(10):905-909.
10. Kunitomo S., Murofushi W., Yamatsu I., Hasegawa Y., Sasaki N., Kobayashi S., Kobayashi T., Murofushi H., Murakami-Murofushi K. 2003. Cholesteryl glucoside-induced protection against gastric ulcer. *Cell Structure and Function*, 28(3):179-186.
11. Allen A., Cunliffe J., Pearson J., Sellers L., Ward R. 1984. Studies on gastrointestinal mucus. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 93:S101-S113.
12. Salim A. 1993. Sulfhydryl-containing agents: new approach to the problem of refractory peptic ulceration. *Pharmacology*, 46(6):281-288.
13. Oliveira F.A., Vieira-Junior G.M., Chaves M.H., Almeida F.R., Santos K.A., Martins F.S., Silva R.M., Santos F.A., Rao V.S.N. 2004. Gastroprotective effect of the mixture of α and β -amyrin from *Protium heptaphyllum*: role of capsaicin-sensitive primary afferent neurons. *Planta Medica*, 70(8):780-782.
14. Elliott S., Wallace J. 1998. Nitric oxide: a regulator of mucosal defense and injury. *Journal of Gastroenterology*, 33(6):792-803.

Reconocimientos

Se agradece a la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional por el financiamiento del presente trabajo con el número de Proyecto 2009-090816.