

Interacción del D-002 y la cimetidina sobre lesiones gástricas inducidas experimentalmente

Suria Valdés, Daisy Carbajal,* Vivian Molina, María de Lourdes Arruzazabala y Rosa Más.

Dpto. Farmacología, Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Apartado Postal 6414, Avenida 25 y 158, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 18 de noviembre de 1999. Aceptado: 11 de marzo del 2000.

Palabras clave: alcoholes alifáticos, D-002, cera de abejas, úlcera gástrica, cimetidina.
Key words: aliphatic alcohols, D-002, bees wax, gastric damage, cimetidine.

RESUMEN. El D-002 es una mezcla natural de alcoholes alifáticos primarios de elevado peso molecular obtenida y purificada de la cera de abejas (*Apis mellifera*). En este trabajo se estudió el efecto de la administración oral del D-002, agente gastroprotector en combinación con la cimetidina, un antagonista del receptor a la histamina H_2 . Se realizaron ensayos sobre la secreción ácida gástrica en el modelo de ligadura de piloro en ratas y las lesiones gástricas inducidas experimentalmente en los modelos de úlcera inducida por etanol e indometacina. En ratas con ligadura de piloro, la administración oral de cimetidina redujo la secreción ácida gástrica y la acidez mientras que la combinación con D-002, no afectó la reducción de estos indicadores alterados por la cimetidina. En la úlcera por estrés, modelo dependiente de ácido, se obtuvieron resultados similares y la no potenciación del efecto protector de la cimetidina por la administración conjunta con D-002. Esta nueva droga protegió la mucosa gástrica en la úlcera por etanol, modelo ácido-independiente, no así la cimetidina. Por otra parte, la combinación D-002 con cimetidina mostró una inhibición significativa de las lesiones de la mucosa gástrica inducidas por la administración de indometacina a dosis en las que ambas por separado no mostraron un efecto protector de la mucosa. Estos resultados sugieren que la combinación de D-002 y cimetidina incrementa el efecto antiulceroso de la cimetidina frente a agentes inductores de lesiones gástricas como los antiinflamatorios no esteroidales, en este caso la indometacina, lo que habla nuevamente a favor de un mecanismo citoprotector del D-002, diferente a las drogas que inhiben la secreción ácida como los antagonistas H_2 .

ABSTRACT. D-002 is a mixture of primary aliphatic alcohols of high molecular weight obtained and purified from beeswax (*Apis mellifera*). This product contains triacontanol, octacosanol, dotriacontanol, hexacosanol and tetracosanol with tetratriacontanol as a minor component. In this work, were studied the effect of oral administration of D-002, a gastroprotective agent in combination with cimetidine, a histamine H_2 receptor antagonist. Assays on gastric acid secretion in pylorus-ligated rats as well as experimentally induced acute gastric lesions in rats by etanol and indometacin were performed. In pylorus-ligated rats the oral administration of cimetidine decreased the gastric acid secretion and the acidity whereas D-002 did not affect the cimetidine induced reduction in acid secretion. In stress induced ulcer, an acid-dependent model too, the results were similar and it hasn't been observed an increase of the protector effect of cimetidine by the combination with D-002. D-002, protected the gastric mucosae in the etanol-induced ulcer. On the other hand, the combination of D-002 and cimetidine showed a more powerful inhibition than either drug alone. These results corroborate the gastroprotective mechanism of D-002 and suggest that the combination of D-002 and cimetidine increases the antiulcer effects of cimetidine in the gastric damage induced by indometacin, suggesting its potential value for ulcer therapy.

INTRODUCCION

Las úlceras pépticas son consideradas como el resultado de la ruptura del balance entre los factores agresivos (ácido y pepsina) y los defensivos (secreción de mucus, flujo sanguíneo de la mucosa gástrica, etc.), en el estómago.¹ Los antagonistas H_2 , entre los que se encuentran la cimetidina y la ranitidina producen una notable mejoría en el tratamiento de la úlcera péptica debido a su potente efecto antisecreto.² Por otra parte, existen pacientes resistentes al tratamiento con antagonistas H_2 y una parte de ellos muestra recidivas después de la terapia con estos agentes.

El D-002 es una mezcla natural de alcoholes alifáticos primarios aislada y purificada de la cera de abejas (*Apis mellifera*). Ha sido demostrado preclínicamente que este fármaco previene la formación de úlceras gástricas inducidas por agentes necrozantes (etanol y HCl), así como frente a los antiinflamatorios no esteroidales (AINE) (indometacina y ASA).³ La administración oral de D-002 también protege la mucosa gástrica en modelos ácido-dependientes como la úlcera inducida por estrés (inmovilización e inmersión) y la ligadura de piloro. Este agente incrementa los factores defensivos a través de un aumento en la cantidad y calidad del mucus, una disminución de la permeabilidad vascular de la mucosa, así como a través de un efecto dependiente de prostaglandinas endógenas.⁴

Correspondencia:

*Daisy Carbajal Quintana

Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Avenida 25 y 158, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.

El objetivo del presente estudio fue examinar los efectos de la combinación de D-002 y cimetidina sobre la secreción ácida gástrica y las lesiones gástricas inducidas experimentalmente en modelos ácido-dependientes, en este caso la indometacina y el etanol, para modelos ácido-independiente.

MATERIALES Y METODOS

Animales

Se emplearon ratas Sprague Dawley hembras entre 180 y 200 g de peso (Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio, (CENPALAB) y adaptados durante 7 d a las condiciones de laboratorio con temperatura y humedad controladas (25 ± 2) °C. Después del periodo de adaptación, los animales fueron distribuidos aleatoriamente en diferentes grupos experimentales.

Administración y dosificación

El D-002 fue utilizado tras corroborar sus especificaciones de calidad. Se administró en forma de suspensión en un vehículo Tween 20 al 2 %, disuelto en agua destilada. Las dosis fueron aplicadas por vía oral (5 mL/kg). Los controles recibieron sólo el vehículo.

La cimetidina, droga de referencia, fue administrada en forma de suspensión en goma acacia al 1 %.

En todos los experimentos de inducción de úlcera gástrica, se retiró el alimento a los animales con 18 h de antelación a su realización.

Úlcera por etanol

Se procedió según describe Zengil y col.⁵ Una hora después de la administración de las drogas (D-002 5 y 10 mg/kg; cimetidina 50 mg/kg y la combinación de ambas) los animales recibieron por vía oral etanol 60 % (1 mL/200 g de peso). Una hora posterior a la administración del etanol, las ratas fueron sacrificadas, los estómagos extraídos, abiertos por la curvatura mayor y lavados en disolución salina para una posterior cuantificación del daño.

Úlcera por indometacina

Una hora después de la administración de D-002 (10 mg/kg) y la cimetidina (50 mg/kg), las ratas recibieron indometacina 50 mg/kg por vía oral mediante entubación gástrica y a las 4 h, los animales fueron sacrificados. Posteriormente, el daño producido fue analizado.

Úlcera por estrés

Una vez aplicados los tratamientos a las ratas (D-002 25 y 100 mg/kg,

cimetidina 10 mg/kg y la combinación de ambas drogas), aquellas fueron inmovilizadas individualmente en cilindros de metal de 5 cm de diámetro y sumergidas en un baño de agua termorregulado a (24 ± 1) °C hasta el nivel xifoide para provocar el estrés. Siete horas después fueron sacrificadas y los estómagos extraídos para el conteo de las lesiones.

Ligadura de píloro

La secreción ácida gástrica fue medida en el modelo de ligadura de píloro en ratas. Las drogas fueron oralmente administradas 1 h previa a la ligadura (D-002 10 y 50 mg/kg; cimetidina 25 mg/kg y la combinación de ambas). Las ratas fueron anestesiadas con éter y se les realizó una incisión en el abdomen, se expuso el estómago y el píloro fue ligado con un hilo de sutura. El contenido gástrico fue colectado 4 h después, bajo anestesia con éter y centrifugado a 2 000 r/min por 10 min. El volumen del sobrenadante fue medido y la concentración de ácido fue determinada por titulación con NaOH 0,1 mol/L, utilizando como indicador el anaranjado de metilo.

Cuantificación de las lesiones

Una vez sacrificados los animales, los estómagos fueron extraídos

y abiertos por la curvatura mayor, lavados en disolución salina y las lesiones evaluadas, contadas a ciegas por dos observadores independientes. El daño fue expresado como la suma total de la longitud de las lesiones en milímetros.

RESULTADOS

Efectos sobre lesiones en la mucosa gástrica

En el modelo de úlcera inducida por etanol, la cimetidina (50 mg/kg) no mostró una disminución significativa del índice ulceración, hecho que coincide con resultados obtenidos por otros autores⁸ (Tabla 1). Por otra parte, el D-002 (5 y 10 mg/kg) mostró un efecto preventivo de las lesiones inducidas por etanol que resultó dosis-dependiente. Esta prevención no fue incrementada por la administración simultánea de cimetidina (Tabla 1).

El D-002 (10 mg/kg) ni la cimetidina (10 mg/kg) disminuyeron la formación de lesiones en mucosa gástrica inducidas por indometacina. La combinación de ambas drogas a esas mismas dosis mostró una inhibición significativa y provocó un efecto protector de la mucosa, mayor que el inducido por cada droga (Tabla 2).

El D-002 (100 mg/kg) protegió la mucosa gástrica del daño ocasiona-

Tabla 1. Efecto del D-002, la cimetidina y la combinación de ambas en el modelo de úlcera por etanol.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	n	Índice de úlcera (mm)
Control		14	52,7 ± 3,63
D-002	5	14	39,2 ± 6,17
D-002	10	12	26,7 ± 5,60***
Cimetidina	50	14	43,7 ± 6,56
D-002 + cimetidina	5	12	40,3 ± 7,19 ns
D-002 + cimetidina	10	12	21,3 ± 5,46** ns

p < 0,01, * P < 0,001 Comparación con el grupo control (U de Mann Whitney). ns No significativo. Comparación con la dosis correspondiente de D-002.

Tabla 2. Efecto del D-002, la cimetidina y la combinación de ambas en la úlcera por indometacina.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	n	Índice de úlcera (mm)
Control		15	24,7 ± 4,37
D-002	10	11	21,2 ± 3,05*
Cimetidina	10	11	21,9 ± 4,27'
D-002 + cimetidina		12	11,4 ± 2,76*

*p < 0,05 comparación con el control. 'p < 0,05 comparación con la combinación (D-002 + cimetidina), U de Mann Whitney.

do por estrés por inmovilización e inmersión, no así la dosis de 25 mg/kg. Tal como era de esperar, la cimetidina (10 mg/kg) resultó más efectiva que el D-002, debido a que este es un modelo dependiente de ácido. En él no se observó un incremento del efecto protector después de la administración conjunta de ambos productos (Tabla 3).

Efecto sobre la secreción gástrica en la ligadura de píloro

La administración oral de cimetidina (25 mg/kg) redujo tanto el volumen del jugo gástrico como la concentración de ácido en las ratas con ligadura de píloro (Tabla 4). El D-002 (50 mg/kg) disminuyó el volumen de jugo gástrico, no así la acidez, sin alterar la reducción de la secreción gástrica ni la acidez inducida por cimetidina.

DISCUSION

Ha sido demostrado que el balance de los factores agresivos y defensivos resulta importante para mantener la integridad de la mucosa gástrica.⁶ Cuando la inducción de úlcera es realizada por agentes necrotizantes (etanol, HCl, etc.), la formación de las lesiones, se encuentra involucrada con una depresión de los factores defensivos.^{7,8}

En el modelo de úlcera por etanol, la cimetidina, antagonista H_2 , no mostró un efecto protector de la mucosa gástrica, hecho que corrobora resultados previos⁹ y los de otros autores,⁹ debido al mecanismo de acción de esta droga caracterizado por la inhibición de la secreción ácida gástrica, a diferencia del D-002, que sí protegió la mucosa a una dosis cinco veces menor. No se observó un incremento del efecto protector de la mucosa con la administración conjunta de la cimetidina y el D-002, lo que reafirma la existencia de un mecanismo diferente al de la cimetidina, que posiblemente esté relacionado con un incremento de los factores defensivos de la mucosa gástrica.

La patogénesis de las lesiones gástricas inducidas por drogas antiinflamatorias no esteroideas involucra la acidez gástrica y una depresión de los factores defensivos de la mucosa, debido a la deficiencia de prostaglandinas endógenas citoprotectoras, especialmente, Pgl2 y PGE2¹⁰⁻¹³ y a una sobreproducción de leucotrienos y radicales libres que desempeñan

Tabla 3. Efecto del D-002, la cimetidina y la combinación de ambas sobre la úlcera por estrés.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	n	Índice de úlcera (mm)
Control		26	37,4 ± 2,5
D-002	25	10	40,8 ± 4,2
	100	15	25,8 ± 2,5**
Cimetidina	10	14	27,0 ± 3,2**
D-002 + cimetidina	25 + 10	10	23,6 ± 3,2**
	100 + 10	13	24,9 ± 4,0*

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ U de Mann Whitney. Comparación con el control.

Tabla 4. Efecto del D-002, la cimetidina y la combinación de ambas sobre el modelo de ligadura de píloro.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	n	Volumen de jugo gástrico (mL)	Acidez (mEqH ⁺ /mL)
Control		16	7,21 ± 0,49	10,32 ± 1,15
D-002	10	10	5,92 ± 0,46	9,68 ± 1,32
	50	14	5,50 ± 0,52*	8,91 ± 0,56
Cimetidina	25	14	4,70 ± 0,52**	7,50 ± 0,63*
D-002 + cimetidina	10 + 25	14	4,67 ± 0,57**	7,85 ± 0,46*
	50 + 25	11	4,94 ± 0,53**	7,47 ± 0,74*

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. Comparación con el control (U de Mann Whitney).

una función ulcerogénica. La administración conjunta de D-002 y cimetidina produce una potenciación del efecto protector de la mucosa gástrica, lo que revela que la combinación de un agente antisecretor (cimetidina) con un agente gastroprotector (D-002) pudiera ser ventajosa en el tratamiento clínico de la úlcera inducida por indometacina. Además, existen reportes de que la administración conjunta de una droga citoprotectora con la cimetidina resulta beneficiosa en el tratamiento de pacientes con úlceras gástricas resistentes a los antagonistas H_2 .¹⁴

El hecho de que el D-002 incremente factores defensivos tales como: la cantidad y calidad del mucus gástrico, disminuya la permeabilidad vascular y los niveles de tromboxano B_2 (TXB₂)⁴ y aumente las prostaglandinas endógenas a diferencia de la cimetidina cuyo efecto fundamental es ejercido a través de la reducción de la secreción ácida gástrica, explica la interacción encontrada entre el D-002 y la cimetidina en este modelo experimental.

En el modelo de úlcera por estrés, la secreción ácida gástrica desempeña

un papel muy importante en la formación de la lesión, aunque participan otros procesos tales como la reducción de mucus y la alteración de la microcirculación de la mucosa.¹⁵⁻¹⁶ En este caso, la cimetidina resultó más efectiva y sólo a dosis elevadas (100 mg/kg), el D-002 mostró un efecto protector de la mucosa.

Por otra parte, ensayos previos demostraron que el D-002 a dosis elevadas disminuye el volumen de jugo gástrico, pero no la acidez,⁴ hecho que se corrobora en este trabajo y que pudiera explicar la ausencia de interacción con la cimetidina en los modelos de la úlcera por estrés y ligadura de píloro que son muy dependientes de la formación de ácido.

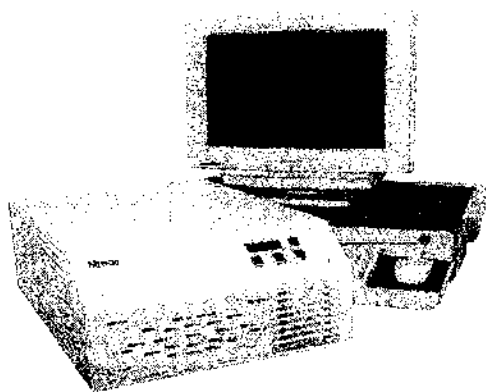
CONCLUSIONES

En modelos dependientes de ácido, el D-002 no potencia el efecto antisecretor de la cimetidina, hecho que sólo se observa en la úlcera provocada por indometacina debido al mecanismo de acción citoprotector de esta droga y a las características del modelo de involucrar en su mecanismo tanto una depresión de los factores defensivos como un incremento de la acidez.

BIBLIOGRAFIA

1. Soll A. H., Berglindh T. Receptors that regulate gastric-acid secretory function. Johnson LR. Ed Physiology of the gastrointestinal tract. New York Raven Press, 1139, 1994.
2. Feldman M., Burton M.E. Histamine 2 receptor antagonists. *N. England J. Med.*, 323, 1672, 1990.
3. Carbajal D., Molina V., Valdés S., Arruzazabala M.L., and Más R. Anti-ulcer activity of higher primary alcohols of beeswax. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57, 731, 1995.
4. Carbajal D., Molina V., Valdés S., Arruzazabala M.L., Rodeiro I., Más R. and Magraner J. Possible mechanism in rats of D-002 an antiulcerogenic product isolated from beeswax. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 48, 858, 1996.
5. Zengil H., Onuk E., Ercan Z.S., Turker R.K. Protective effect of iloprost and UK 388485 against gastric mucosal damage induced by various stimuli. *Prostaglandins Leukotrienes and Medicine*, 30, 61, 1987.
6. Cabrera E.E. Factores de riesgo asociados a la úlcera péptica, Trabajo en opción al título de especialista de primer grado en Gastroenterología. Hospital Calixto García, 1995.
7. Robert A. Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterology*, 77, 761, 1979.
8. Miller T.A. Protective effect of prostaglandins against gastric mucosal damage current knowledge and proposed mechanism. *Am. J. Physiol.*, 245, 6601, 1983.
9. Kinoshita M., Noto T., Tamaki H. Effect of a combination of Ecabet Sodium and cimetidine on Experimentally Induced gastric Lesions and Gastric Mucosal Resistance to ulcerogenic agents in Rats. *Biol. Pharm. Bull.*, 18, 223, 1995.
10. Champion GD., Feng PH., Azuma T., Caughey DE. NSAID-induced gastrointestinal damage. Epidemiology, risk and prevention, with an evaluation of the role of misoprostol. *Asia Pacific Perspective and Consensus Drugs*, 53, 6, 1997.
11. Osada T., Goto H., Tsukamoto Y., Nakasama S., Sugiyama S., Uzawa T. Role of leukotrienes in hydrochloric acid-induced gastric lesions in rats. *Dig. Dis. Sci.*, 35, 186, 1990.
12. Konturek S.J., Brozozowski T., Drozdowicz D. Role of leukotrienes in acute gastric lesions induced by ethanol, taurocholate, aspirin, platelet activating factor and stress in rats. *Dig. Dis. Sci.*, 33, 806, 1988.
13. Wallace J.L., and Chin B.C. Inflammatory mediators in gastrointestinal. Defense and Injury (44087). *P.S.E.B.M.*, 214, 15, 1997.
14. Stasiewicz J., Raimer M., Kozzozynske M., Szacaj W., Slezak. Misoprotol and denol in the treatment of patients with cimetidine-resistant stomach ulcer. *Pol. Arch. Med., Wewn.*, 81, 21, 1982.
15. Kitagawa H., Fujiwara M., Osumi Y. Effect of water immersion stress on gastric secretion and mucosal blood flow in rats. *Gastroenterology*, 77, 298, 1979.
16. Hakkinnen L., Haetiala K and Lang H. The effect of restraint on the content of acid polysaccharides of glandular gastric wall in rat. *Acta Physiological Scandinavia*, 66, 333, 1996.

Medicid



Potencia y flexibilidad.
Equipos para electroencefalografía digital.

**EEG CUANTITATIVO Y MAPEO CEREBRAL
VIDEO EEG**

**CLASIFICACION AUTOMATICA DE ETAPAS DEL SUEÑO
MONITOREO INTRAOPERATORIO
Y DE CUIDADOS INTENSIVOS
POTENCIALES PROVOCADOS SENSORIALES Y COGNITIVOS**

Electroencefalógrafo digital de 32 amplificadores, 24 de ellos monopares con ganancias programables y 8 bipolares que tienen posibilidad de conexión monopolar para formar hasta 32 canales con referencia común. Permite realizar por software la mayoría de las combinaciones de montaje que se acostumbran a utilizar en los polígrafos de papel.

Los amplificadores bipolares están especialmente concebidos para la conexión de sensores o transductores para la medición de señales biofísicas (esfuerzo respiratorio abdominal/torácico, flujo aéreo nasal/bucal, etc.) cuando se efectúan registros poligráficos.

Posee un doble aislamiento que garantiza la protección del operador y el paciente contra shock eléctrico accidental y posibilita su empleo en cualquier tipo de instalación hospitalaria.

Con él pueden explotarse otras aplicaciones tales como:

- TrackWalker:** Sistema básico de EEG digital. Puede incluir además, EEG cuantitativo y mapeo cerebral y Video EEG.
- BrainSide:** Sistema para el monitoreo intraoperatorio del EEG.
- DreamHunter:** Sistema para estudios de sueño.
- MindTracer:** Sistema para el estudio de potenciales evocados relacionados a eventos.



Teléfonos: (537) 33 6568; 21 7442; 21 7390. Fax: (537) 33 6707. Correo electrónico: neuronica@cneuro.edu.cu
Apartado Postal 16041, Avenida 25 y 158, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.