

Estudio comparativo de los efectos antiulcerosos del D-002 con sucralfato y omeprazol

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

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

Recibido: 7 de junio de 1999. Aceptado: 17 de noviembre de 1999.

Palabras clave: alcoholes alifáticos, D-002, cera de abejas, úlcera gástrica, sucralfato, omeprazol, etanol, estrés.
Key words: aliphatic alcohols, D-002, bee-wax, gastric ulcer, sucralfate, omeprazol, ethanol, stress.

RESUMEN. El D-002 es una mezcla natural de alcoholes alifáticos de elevado peso molecular que se aísla y purifica de la cera de abejas. Previamente ha sido demostrado que este producto posee efecto antiulceroso debido a que protege la mucosa gástrica en modelos de úlcera inducida tanto por agentes necrotizantes (etanol y HCl) como por antiinflamatorios no esteroideos (aspirina e indometacina) a través de un mecanismo citoprotector. En el presente estudio se realizaron ensayos donde se comparó el efecto del D-002 con dos medicamentos ampliamente utilizados en la clínica y muy efectivos en el tratamiento de la úlcera gastroduodenal como son el sucralfato, perteneciente al grupo de drogas citoprotectoras y el omeprazol, un conocido inhibidor de la bomba de protones. Los ensayos se realizaron en los modelos de úlcera inducida por etanol (60 %) y por estrés provocado por inmovilización e inmersión, modelos ácido-independiente y dependiente respectivamente. El tratamiento oral con D-002 y sucralfato protegió la mucosa gástrica del daño inducido por etanol de manera significativa, disminuyendo de esta forma el índice de úlcera y el porcentaje de inhibición en un 64 y un 52 % respectivamente. Sin embargo, el D-002 en este modelo resultó más efectivo que el omeprazol. En la úlcera inducida por estrés, el omeprazol disminuyó las lesiones gástricas en un 94 %, por lo que demostró una mayor efectividad que el D-002, alcanzando un 61 %. Estos resultados corroboran el hecho de que este producto es una droga antiulcerosa con un mecanismo citoprotector.

ABSTRACT. D-002 is an anti-ulcerogenic product isolated from beeswax, which consists of a well-defined mixture of higher aliphatic alcohols. Previous results have been shown that this product possess an antiulcerogenic effect and several evidences point to an cytoprotective mechanism of action. It has been supported the aforementioned results in experimental models of gastric damage induced by necrotizing agents (ethanol, HCl) and no steroidal anti-inflammatory (aspirin and indomethacin). This study was designed in order to compare the antiulcerogenic effect of D-002 with sucralfate (cytoprotective drug) and omeprazol (proton pump inhibitor). It has been demonstrated that sucralfate and omeprazol are so effective in the treatment of gastroduodenal ulcer although they have different mechanisms of action. This study was made utilizing two experimental models: a) ethanol-induced ulcer (necrotizing agent) and b) stress-induced ulcer (dependent-acid model) in rats. The present study indicates that both drugs (D-002 and sucralfate) showed similar inhibition of gastric damage at all doses assayed (maximal inhibition: 64 and 52 % respectively). Furthermore, D-002 was more effective than omeprazol in this model. Nevertheless, in stress-induced ulcer model, omeprazol was more effective than D-002 (maximal inhibition: 96 and 61 % respectively). These results agree with others and demonstrated that D-002 is an antiulcerogenic drug with a cytoprotective mechanism of action.

INTRODUCCION

El D-002 es una mezcla natural de alcoholes alifáticos primarios de elevado peso molecular que se aísla y purifica de la cera de abejas (*Apis mellifera*).

Estudios previos han demostrado que el D-002 posee un efecto antiulceroso al disminuir las lesiones gástricas inducidas por agentes necrotizantes como el etanol y el HCl, por antiinflamatorios no esteroideos como aspirina e indometacina, así como en el modelo de úlcera inducida por estrés. Por otra parte, se demostró que este efecto antiulceroso es producido a dosis en las que no se afecta la acidez gástrica, lo que sugiere la ocurrencia de un mecanismo citoprotector.¹

Otros estudios demostraron que el D-002 incrementa no sólo la producción sino también, la calidad del mucus, disminuye la permeabilidad vascular, así como la cantidad de tromboxano B₂ (TXB₂) en mucosa gástrica y que este efecto gastroprotector es dependiente de la acción de prostaglandinas endógenas.²

El sucralfato es un agente citoprotector utilizado clínicamente como antiulceroso^{3,4} y el omeprazol es la primera droga de una nueva clase de agentes antiulcerosos (inhibidores de la bomba de K⁺-H⁺-ATPasa) muy efectiva y ampliamente

Correspondencia:

*Daisy Carbajal Quintana

Dpto. Farmacología, Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Avenida 25 y 158, Playa, Apartado Postal 6990, Ciudad de La Habana, Cuba.

te utilizada actualmente en la clínica. El objetivo del presente trabajo consistió en la comparación del D-002 con el sucralfato y el omeprazol, en dos modelos experimentales de úlcera, uno independiente de ácido como es la úlcera inducida por etanol en el que la droga tipo a estudiar es el sucralfato y otro modelo dependiente de ácido como es la úlcera inducida por estrés, siendo la droga tipo en este caso el omeprazol.

MATERIALES Y METODOS

Animales

Se emplearon ratas Sprague Dawley hembra de 200-250 g de peso procedentes del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB, Cuba) y adaptados durante 7 d a las condiciones de laboratorio con temperatura y humedad controladas (25 ± 2 °C, las cuales recibieron agua y comida *ad libitum* hasta las 24 h previas al experimento.

Una vez adaptados los animales fueron distribuidos aleatoriamente en los 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 goma acacia 1 % por vía oral (5 mL/kg) a través de una sonda gástrica.

Para su administración, el sucralfato fue disuelto en agua destilada (20 mg/mL). El omeprazol fue disuelto en goma acacia (1 %) y se le añadió 1 mg/mL de NaHCO_3 para preservar su destrucción por los ácidos del estómago.

Los grupos controles recibieron el vehículo (goma acacia 1 %) por vía oral.

Úlcera inducida por etanol

En el estudio comparativo del D-002 y el sucralfato en el modelo experimental de úlcera inducida por etanol, se emplearon las dosis de 25, 50 y 100 mg/kg respectivamente.

En otro ensayo comparativo entre el D-002 y el omeprazol, las ratas recibieron dosis de 5 y 25 mg/kg.

Se procedió según describen Zengil y col.⁵ Para ello, se realizaron dos series experimentales, en las que se compararon los efectos del D-002 y el sucralfato en la primera y los del D-002 y el omeprazol en la segunda. De esta forma, una hora después de la administración del vehículo, las ratas recibieron etanol al 60 % (1 mL/200 g) por la misma vía. Al transcurrir 1 h, fueron sacrificadas y posteriormente, se analizó el daño producido.

Úlcera por estrés provocado por inmovilización e inmersión

Los grupos experimentales fueron los siguientes: Un grupo control a los que se les administró vehículo (Tween 20/ H_2O); cuatro grupos que recibieron D-002 a las dosis de 5; 25; 50 y 100 mg/kg y cuatro grupos que recibieron omeprazol a 0,1; 1; 5 y 10 mg/kg, respectivamente. Inmediatamente después de cada tratamiento, las ratas fueron inmovilizadas individualmente en cilindros de metal de 5 cm de diámetro e inmersas en un baño de agua termorregulado a 24 °C hasta el nivel xifoide para provocarles estrés, según la técnica descrita por Takagi and Okabe.⁶ Siete horas después, los animales fueron sacrificados y sus estómagos extraídos.

Cuantificación de lesiones en la mucosa

En ambos modelos los estómagos extraídos fueron abiertos por la curvatura mayor y lavados con disolución salina. Las lesiones en la mucosa gástrica fueron cuantificadas y los resultados expresados como la suma total de la longitud de las lesiones en milímetros por dos observadores independientes a ciegas, después de haber comprobado la similitud de los resultados entre ellos.⁷ Se consideraron cinco petequias equivalentes a 1 mm de úlcera.

Análisis estadístico

Las comparaciones entre grupos tratados y controles fueron realizadas mediante la prueba no paramétrica de la U de Mann Whitney.

RESULTADOS

Se pudo apreciar que tanto el D-002 como el sucralfato protegen la

mucosa gástrica de forma significativa y dependiente de la dosis en el modelo de úlcera inducida por etanol (Tabla 1). No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos. Sin embargo, el D-002 mostró una discreta tendencia a poseer una mayor efectividad, ya que el porcentaje de inhibición de las lesiones resultó mayor que el del sucralfato en todas las dosis ensayadas.

La tabla 2 resume los efectos del pretratamiento con ambas drogas (D-002 y omeprazol) sobre las úlceras inducidas por etanol.

Se observó, que el D-002 inhibe significativamente las úlceras inducidas por etanol tanto a la dosis de 5 como a la de 25 mg/kg, mientras que el omeprazol administrado a las dosis de 5 mg/kg no resulta efectivo en este modelo, para el cual sólo se aprecia una disminución significativa del índice de úlceras a dosis de 25 mg/kg. Además, el índice promedio de úlceras, el porcentaje de inhibición alcanzado y el nivel de significación demuestran que la eficacia del D-002 en dicho modelo resulta mayor que la del omeprazol.

La tabla 3 resume los resultados correspondientes al modelo de úlcera inducida por estrés. Como se puede apreciar, ellos son totalmente diferentes a los obtenidos en el modelo de úlcera inducida por etanol, ya que en este caso, el omeprazol resulta efectivo desde dosis tan bajas como 0,1 mg/kg, a partir de la cual se produce un decremento significativo del índice de úlceras. Además, se observó un efecto dependiente de la dosis que alcanzó un 94 % de inhibición a 10 mg/kg. En cambio, el D-002 sólo resulta efectivo a partir de 25 mg/kg y en ese caso, se aprecia también una relación dosis-depen-

Tabla 1. Efecto del D-002 administrado por vía oral sobre la úlcera inducida por etanol 60 %.

Tratamiento	(mg/kg)	n	Índice de úlcera (mm)	Inhibición (%)
			($\bar{X} \pm \text{EE}$)	
Control		15	72,0 $\pm$ 7,68	
D-002	25	10	47,9 $\pm$ 9,39*	33
	50	10	40,7 $\pm$ 8,64*	43
	100	10	25,9 $\pm$ 5,17***	64
Sucralfato	25	13	56,3 $\pm$ 5,69	22
	50	14	50,2 $\pm$ 6,45*	30
	100	14	32,9 $\pm$ 5,70 **	52

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001. Comparación con el grupo control (U de Mann Whitney). Los resultados son expresados como ($\bar{X} \pm \text{EE}$).

Tabla 2. Efecto del D-002 y el omeprazol sobre las úlceras inducidas por etanol 60 %.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	n	Índice de úlcera (mm)	Inhibición (%)
			($\bar{X} \pm EE$)	
Control		15	46,53 $\pm$ 6,93	
D-002	5	12	14,80 $\pm$ 3,77***	68
	25	18	12,60 $\pm$ 2,54***	73
Omeprazol	5	13	41,00 $\pm$ 3,48	12
	25	12	21,40 $\pm$ 3,73**	54

p < 0,01; *p < 0,001. Comparación con el grupo control (U de Mann Whitney). Los resultados son expresados como ($\bar{X} \pm EE$).

Tabla 3. Efecto del D-002 y el omeprazol sobre las úlceras inducidas por estrés por inmovilización e inmersión.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	n	Índice de úlcera (mm)	Inhibición (%)
			($\bar{X} \pm EE$)	
Control		16	26,9 $\pm$ 2,57	
D-002	5	8	17,6 $\pm$ 4,34	34
	25	8	15,2 $\pm$ 5,72*	43
	50	8	13,7 $\pm$ 1,67**	49
	100	8	10,4 $\pm$ 1,87**	61
Omeprazol	0,1	8	11,8 $\pm$ 3,40**	56
	1	8	7,65 $\pm$ 2,78**	71
	5	8	4,45 $\pm$ 1,60***	83
	10	8	1,55 $\pm$ 0,69***	94

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001. Comparación con el grupo control (U de Mann Whitney). Los resultados son expresados como ($\bar{X} \pm EE$).

diente, cuya eficacia (dada por la intensidad del efecto) es menor que la del omeprazol sólo se observó un 60 % de inhibición del daño a la dosis de 100 mg/kg.

DISCUSION

Los estudios realizados demuestran que el D-002 administrado por vía oral resulta tan efectivo como el sucralfato al proteger la mucosa gástrica en la úlcera inducida por etanol, agente necrotizante, lo que habla a favor de un mecanismo de acción de tipo citoprotector. Sin embargo, la efectividad antiulcerosa del omeprazol en este modelo fue menor que la del D-002 al inhibir las úlceras en un 54 % a 25 mg/kg, mientras que este provocó un 73 % de inhibición del daño a esta misma dosis.

La fisiopatología de la úlcera por etanol está determinada por la disminución del flujo sanguíneo y la producción de *mucus*, así como por un incremento de tromboxano B₂

(TXB₂), leucotrienos B₄ (LTB₄) y de radicales libres en la mucosa gástrica, lo cual hasta el presente no ha sido descrito como dependiente de la secreción de ácido.⁸ Este tipo de úlceras es antagonizada fundamentalmente por agentes antiulcerosos de acción citoprotectora, tales como el sucralfato.⁹

Esta droga es utilizada eficazmente en el tratamiento de la inflamación gastrointestinal y de las úlceras tanto gástricas como duodenales,^{10,11} ya que protege la mucosa gástrica humana debido al incremento de la síntesis de prostanoïdes¹² y además ejerce una acción citoprotectora al incrementar el flujo sanguíneo de la mucosa gástrica en la úlcera inducida por etanol en ratas.^{13,14}

Resultados previos demuestran que el D-002 posee un efecto protector de la mucosa gástrica a dosis que no afectan la acidez,¹ lo cual revela un mecanismo citoprotector, según los criterios de Robert y col.¹⁵ Además,

el D-002 reduce la cantidad de LTB₄,¹⁶ TXB₂, así como la permeabilidad vascular en diferentes modelos experimentales, por lo que su efectividad en este modelo resulta congruente.

En cambio, en el modelo de úlcera por estrés, un modelo dependiente de ácido, inducido en ratas mediante su inmovilización e inmersión, el omeprazol resulta más efectivo que el D-002 tanto en relación con las menores dosis efectivas requeridas como con el porcentaje de inhibición que se alcanza.

El omeprazol inhibe la bomba de protones H⁺ presente en la mucosa gástrica y disminuye la secreción ácida gástrica, por lo cual resulta más efectivo en modelos ácido-dependientes. No obstante, esto no descarta efectos citoprotectores de este tipo de drogas, así como de los antagonistas H₂, lo cual se encuentra actualmente en estudio.

En consecuencia, la superior efectividad de este agente en el modelo de úlcera por estrés en que desempeña un papel fundamental el incremento de la secreción ácida resulta lógica. No obstante, en este modelo también influyen otros aspectos tales como la reducción de *mucus* gástrico y la alteración de la microcirculación de la mucosa^{17,18} razón por la cual, agentes citoprotectores como el D-002, también pueden resultar efectivos.

Los resultados corroboran el efecto antiulceroso del D-002, así como su perfil farmacológico, el cual evidencia un efecto citoprotector, no obstante, otras experiencias serán necesarias para profundizar en su mecanismo de acción.

BIBLIOGRAFIA

1. Carbajal D., Molina V., Valdés S., Arruzazabala M. de L. and Más R. Anti-ulcer Activity of higher Primary Alcohols of Beeswax. *J. Pharm. Pharmacol.*, 47, 731, 1995.
2. Carbajal D., Molina V., Valdés S., Arruzazabala M. de L., Rodeiro I., Más R. and Magraner J. Possible mechanism Cytoprotective of D-002: An Antiulcerogenic Product Isolated from Beeswax. *J. Pharm. Pharmacol.*, 48, 858, 1996.
3. Herrerías-Gutiérrez J.M., Pardo L. and Segu J.L. Sucralfate versus ranitidine in the treatment of gastric ulcer. Randomized clinical results in short-term and maintenance therapy. *Am. J. Med.*, 86, 94, 1989.
4. GISU. Long Term treatment of patients with gastric ulcer: sucralfate versus ranitidine versus no treatment. *Curr. Ther. Res.*, 55, 1117, 1994.

5. Zengil H., Onuk E., Ercan Z.S. and Turker R.K. Protective effect of Iloprost and UK 38 485 against gastric mucosal damage induced by various stimuli. *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine*, 30, 61, 1987.
6. Takagi K. and Okabe S. The effect of drugs on the production and recovery processes of the stress ulcer. *Japan J. Pharmacol.*, 18, 9, 1968.
7. Ohara A., Sugiyama, Hoshino H., Hamajima E., Goto H., Tsukamoto Y. and Ozawa T. Reduction of Adverse Effect of Indometacin by Anti-Allergic Drugs in Rats Stomachs. *Arzneim-Forsch/Drug Res.*, 42, 1115, 1992.
8. Reimann H.T., Lewin J., Seborniar U., Wendt P. Bluem L. G. and Dajani E.Z. Misoprostol prevents damage to the gastric mucosa by stabilizing the mast cell. *Prostaglandins, Supplement*, 33, 105, 1987.
9. Hollander D., Tarnawski A., Krause W.S. and Argely H. Protective effect of sucralfate against alcohol-induced gastric mucosal injury in the rat. Macroscopic, histologic ultrastructural and functional time sequence analysis. *Gastroenterology*, 88, 366, 1985.
10. Hjortrup A., Svendsen L.B., Beck H., Hoffmann J. and Schroewder M. Two daily doses of sucralfate or cimetidine in the healing of gastric ulcer. A comparative randomized study. *Am. J. Med.*, 86, 113, 1989.
11. Schubert T. Twice-daily sucralfate dosing to heal acute duodenal ulcer. *Multicenter Study Group. Am. J. Med.*, 86, 108, 1989.
12. Cohen M.M., Bowdler R., Gervais P., Morris G.P., Wang H.R. Sucralfate protection of human gastric mucosa against acute ethanol injury. *Gastroenterology*, 96, 292, 1989.
13. Chen V.W., Hiu W.M., Lam S.K., Cho C.H., Ng M.M. and Luk C.T. Effect of sucralfate on gastric mucosal blood flow in rats. *Gut.*, 30, 1544, 1989.
14. Konturek S.J., Brzozowski T., Mach T., Konturtek W.J., Bogdal J. and Stachura J. Importance of an acid milieu in the sucralfate-induced gastroprotection against ethanol damage. *Scand. J. Gastroenterol.*, 7, 807, 1989.
15. Robert A., Nezamis J., Lancaster E. and Hanchar A. Cytoprotection by prostaglandins in rats. *Gastroenterology*, 77, 433, 1977.
16. Carbajal D., Molina V., Valdés S., Arruzazabala M. de L., Más R. and Magraner J. Anti-inflammatory activity of D-002: An active product isolated from Beeswax. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 59, 235, 1998.
17. Kitagawa H., Fujiwara M. and Osumi Y. Effect of water-immersion stress on gastric secretion and mucosal blood flow in rats. *Gastroenterology*, 77, 298, 1979.
18. Hakkinen I., Hartiala K. and Lang H. The effect of restraint on the content of acid polysaccharides of glandular gastric wall in rat. *Acta Physiol Scand.*, 66, 333, 1966.

Medicid 4



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 acostumbra 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.