

00524
174



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

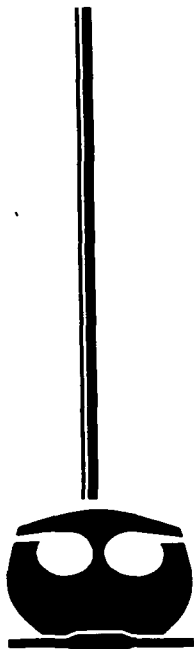
**“ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE
ESTIGMASTEROL SOBRE LAS LESIONES
GÁSTRICAS INDUCIDAS POR ETANOL
EN RATAS WISTAR”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

P R E S E N T A:

MARÍA ELENA SÁNCHEZ MENDOZA



MEXICO, D. F.



2003.

**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA**

L



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

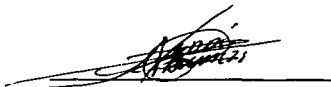
Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

Jurado asignado:

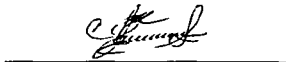
Presidente	RAFAEL RION ARRIOLA
Vocal	HÉCTOR ANTONIO PONCE MONTER
Secretario	ANDRÉS NAVARRETE CASTRO
1er. suplente	ALEJANDRO ORTIZ OSORNIO
2do. suplente	MARÍA EVA GONZÁLEZ TRUJANO

Sitio donde se desarrolló el tema: Laboratorio 126 del conjunto "E". Departamento de Farmacia. Facultad de Química.UNAM.

Asesor del tema: **Dr. Andrés Navarrete Castro**



Sustentante: **María Elena Sánchez Mendoza**



Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

La realización del presente trabajo fue posible gracias al financiamiento de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico a través del proyecto DGAPA IN 203902.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

Resultados parciales de este trabajo se presentaron en el 45th Annual Meeting of the Western Pharmacology Society. XXV Congreso Nacional de Farmacología, efectuado en Mazatlán, Sinaloa, del 27 de Enero al 1 de Febrero del 2002.

M.E. Sánchez, J. Arrieta and A. Navarrete. Gastroprotective activity of phytosterols is inhibited by indomethacin but not by celecoxib.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

Agradecimientos

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico a través del proyecto DGAPA IN 212300, por la beca otorgada.

A la Facultad de Química por el apoyo brindado a través del Subprograma 128 "Formación de Técnicos Académicos".

AGRADECIMIENTOS:

Al Dr. Andrés Navarrete y al M. en C. Jesús Arrieta

Por brindarme además de su apoyo, su amistad, sus conocimientos y su experiencia para el logro de mi tesis.

Al M. en C. Benito Reyes

Por su amistad y enseñanza.

A mis amigos

Por haberme acompañado en buenos y malos momentos.

DEDICATORIA

A mis padres

Por haber dedicado parte de su vida en mi educación, y por brindarme su apoyo incondicional en todo momento.

A mis hermanas

Por apoyarme y compartir siempre nuestros pensamientos.

INDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. FUNDAMENTO TEÓRICO	4
2.1. ÚLCERA GÁSTRICA	4
2.2. ETIOLOGÍA Y PATOLOGÍA	5
2.2.1. Factores asociados a la úlcera péptica	6
2.2.1.1. Infección por <i>Helicobacter pylori</i>	6
2.2.1.2. Aspirina y antiinflamatorios no esteroideos	7
2.2.1.3. Tabaco	7
2.2.1.4. Factores psíquicos	7
2.2.1.5. Síndromes de hipersecreción ácida	8
2.2.1.6. Enfermedades asociadas	8
2.3. SINTOMATOLOGÍA	9
2.4. MODELOS EXPERIMENTALES DE ÚLCERA	9
2.4.1. Ligadura del píloro	10
2.4.2. Inducción de lesiones gástricas por etanol	10
2.4.3. Producción de úlcera por AINES	11
2.4.4. Inducción de úlcera por estrés	11
2.4.5. Producción de lesiones gástricas por agentes necrosantes	12
2.5. TRATAMIENTO DE LA ÚLCERA	12
2.5.1. Antiácidos	12

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratos Wistar

2.5.2. Antisecretores	13
2.5.2.1. Antimuscarínicos	13
2.5.2.2. Antagonistas de los receptores H ₂	13
2.5.2.3. Inhibidores de la ATPasa H ⁺ /K ⁺ , (Bomba de protones)	14
2.5.2.4. Antagonistas de la gastrina	16
2.5.3. Citoprotectores	16
2.5.3.1. Mecanismos de citoprotección	18
2.5.3.2. Factores funcionales	18
2.5.3.3. Factores humorales	20
2.5.3.4. Factores neuronales	23
2.5.4. Fármacos citoprotectores	23
2.5.4.1. Sucralfato	24
2.5.4.2. Compuestos de bismuto	24
2.5.4.3. Carbenoxolona	25
2.5.4.4. Análogos de las prostaglandinas	26
2.5.5. Citoprotección independiente de prostaglandinas	27
2.5.5.1. Grupos sulfhidrilos	27
2.5.5.2. Factor de crecimiento epidérmico	27
2.5.5.3. Meciadanol	28
2.5.5.4. Sulglicótido	28
2.5.5.5. Alginato	29

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

III. METABOLITOS AISLADOS DE PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIULCEROSA	29
3.1. FLAVONOIDES	29
3.2. SAPONINAS	30
3.3. TANINOS	31
3.4. GOMAS Y MUCÍLAGOS	32
3.5. DITERPENOIDES	33
3.6. TRITERPENOIDES	33
3.7. SESQUITERPENOIDES	34
3.8. ALCALOIDES	34
3.9. POLISACARIDOS	35
3.10. ACEITES	35
IV. ESTUDIOS DE PLANTAS MEXICANAS USADAS COMO ANTIULCEROSAS	36
V. ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS FITOSTEROLES B-SITOSTEROL ESTIGMASTEROL Y CAMPESTEROL	37
VI. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	41
VII. HIPÓTESIS	43
VIII. OBJETIVO GENERAL	44
IX. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
X. METODOLOGÍA	45

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

10.1. FÁRMACOS	45
10.2. ANIMALES	45
10.3. ESTUDIO DE GASTROPROTECCIÓN CONTRA LAS ÚLCERAS INDUCIDAS POR ETANOL...	45
10.4. LESIONES GÁSTRICAS INDUCIDAS POR ETANOL EN RATAS PRETRATADAS CON INDOMETACINA O CELECOXIB.	46
10.5. LESIONES GÁSTRICAS INDUCIDAS POR ETANOL EN RATAS PRETRATADAS CON L- NAME	48
10.6. LESIONES GÁSTRICAS INDUCIDAS POR ETANOL EN RATAS PRETRATADAS CON NEM.48	
XI. RESULTADOS	54
XII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	67
12.1 DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE LAS PROSTAGLANDINAS EN EL EFECTO GASTROPROTECTOR DE ESTIGMASTEROL	68
12.2. DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE LA COX-2 EN EL EFECTO GASTROPROTECTOR DE ESTIGMASTEROL.	69
12.3. DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DEL ÓXIDO NÍTRICO EN EL EFECTO GASTROPROTECTOR DE ESTIGMASTEROL	70
12.4 . DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE LOS GRUPOS SULFHIDRILOS EN EL EFECTO GASTROPROTECTOR DE ESTIGMASTEROL.	71
XIII. CONCLUSIONES	72
XIV. PERSPECTIVAS	73
XV. BIBLIOGRAFÍA	74

//

Resumen

En el presente trabajo se realizó el estudio de la actividad gastroprotectora de estigmasterol utilizando el modelo de lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar, asimismo se investigó la participación de las prostaglandinas, el óxido nítrico y los grupos sulfhidrilos en el mecanismo de acción de este fitosterol. Como fármaco de referencia se utilizó a la carbenoxolona. En el estudio de la actividad gastroprotectora del estigmasterol, se encontró que el efecto es dependiente de la dosis, alcanzándose un efecto máximo con la dosis de 300 mg/kg, la carbenoxolona resultó ser no dependiente de la dosis, alcanzándose el efecto máximo con la dosis de 100 mg/kg. El efecto gastroprotector del estigmasterol fue revertido en su totalidad por la indometacina, lo que indica que al igual que para la carbenoxolona, las prostaglandinas están involucradas en su efecto gastroprotector. Sin embargo la administración previa de celecoxib no revirtió el efecto de ambos compuestos lo que indica que la COX-2 no esta involucrada en su mecanismo de acción. El pretratamiento con L-NAME y con NEM revirtió de manera parcial el efecto del estigmasterol, lo que indica que el óxido nítrico y los grupos sulfhidrilos están involucrados de manera parcial en su efecto gastroprotector. Con respecto a la carbenoxolona el efecto gastroprotector no se modificó por el pretratamiento con L-NAME, esto indica que el óxido nítrico no está implicado en su efecto gastroprotector. En tanto que el pretratamiento con NEM modificó de manera parcial el efecto gastroprotector de carbenoxolona indicando que los grupos sulfhidrilo participan de manera parcial en la acción gastroprotectora de este compuesto. En si, en este trabajo se demuestra que el estigmasterol posee actividad gastroprotectora y que las prostaglandinas

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

participan sintetizadas por la COX-1 participan en su mecanismo de acción, en tanto que el óxido nítrico y los grupos sulfhidrilo están implicados de manera parcial.

I. INTRODUCCIÓN

La úlcera péptica es una enfermedad en la cual se producen lesiones en aquellas partes del aparato digestivo que están en contacto con el jugo gástrico, clasificándose de acuerdo a su localización anatómica en úlcera duodenal y gástrica (Bokus y Henry, 1985; Villalobos, 1985).

En México, se ha incrementado la frecuencia de pacientes con úlcera gástrica, y se ha observado una disminución en la úlcera duodenal. La úlcera gástrica se presenta más habitualmente en el sexo femenino, siendo más frecuente en personas mayores de 60 años y generalmente se asocia a la ingestión de AINEs en más de 30% a 40% de los casos, en cambio la úlcera duodenal se presenta más comúnmente en personas jóvenes, generalmente del sexo masculino y asociado a factores de riesgo como el tabaquismo o *Helicobacter pylori*, en más del 90% de los casos (Rodríguez *et al*, 1999). Asimismo en un estudio efectuado en la ciudad de Durango, que comprendió un periodo de 1990 a 1995, demostró que la úlcera péptica y gástrica diagnosticada clínica y endoscópicamente se asocia frecuentemente a los siguientes factores, con respecto a la úlcera gástrica, en el que participaron 251 pacientes, demostró que el 31.47 % se debe al consumo de tabaco, el 19.92 % al consumo de alcohol, y el 48.6 % a la ingesta de AINEs (34.5 % naproxén), en tanto que para la úlcera duodenal, intervinieron 147 pacientes, y en ellos el consumo de tabaco representó el 34.14 %, el consumo de alcohol 39.02 %, y los AINEs el 26.82 % (Rodríguez-Hernández, *et al.*, 2001).

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

Aunque en la actualidad existen fármacos eficaces para el tratamiento de la úlcera péptica, este padecimiento sigue teniendo un alto índice de morbilidad y mortalidad, como se aprecia en las estadísticas de la Secretaría de Salud de México, que muestra que para el año de 1999, la úlcera gástrica y duodenal ocupó el lugar número 20 como causa directa de muerte en la población de 45 a 54 años de edad, el número 15 para las personas de 55 a 64 años y el número 12 en personas de 65 años o más (SS, 1999). En el mismo año el 53% de las muertes debidas a úlcera correspondió a hombres y el 47% a mujeres (SS,1999).

Dentro de la cultura herbolaria de nuestro país, se tiene el registro de más de 56 plantas utilizadas para tratar esta enfermedad, sin embargo, sólo cinco de ellas, cuentan con la comprobación experimental de su efecto farmacológico, siendo estas: *Aloe vera*, las hojas de *Eupatorium aschenbornianum* (Navarrete *et al.*, 1992), *Croton fragilis*, la corteza de *Amphiterygium adstringens* (Cuachalalate) (Navarrete *et al.*, 1998) e *Hippocratea excelsa* (Cancerina) (Navarrete *et al.*, 2002).

Para el Cuachalalate se encontró que los metabolitos responsables de su actividad gastroprotectora son: el ácido 3-epi-oleanólico, el ácido masticadienónico, el ácido 3 α -hidroximasticadienónico y el β -sitosterol (Benítez, 1998), en tanto que para la Cancerina, los metabolitos gastroprotectores son: la epicatequina, la α -amirina y β -amirina, el 3-O- β -glucósido de sitosterol, y β -sitosterol (Navarrete, 2002). En estos trabajos y en uno realizado por investigadores Chinos (Ling y Jones, 1995) se encontró efecto antiulceroso al β -sitosterol. Este esteroles junto con otros fitosteroles comunes como el estigmasterol y el campesterol comparten actividades tales como

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

hipocolesterolemiantes (Andriamiarina, *et al.*, 1989), antinociceptivas (Santos *et al.*, 1995) y protectores contra el cáncer de colon, de seno y de próstata (Awad y Fink, 2000). Considerando esto, se planteó que el estigmasterol pudiese también compartir el efecto antiulceroso presentado por el β -sitosterol. Para comprobar esta hipótesis, en este trabajo se realizó la evaluación de la actividad gastroprotectora del estigmasterol utilizándose como modelo de experimentación las lesiones gástricas inducidas con etanol en rata.

II. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1. Úlcera gástrica

La úlcera es una pérdida circunstancial de la mucosa epitelial que se extiende a través de la *muscularis mucosae* en las partes del tubo digestivo expuestas al jugo gástrico (Guth, 1973; Wyngaarden, 1985). En tanto que las alteraciones restringidas sólo a la mucosa, se denominan erosiones (Guth, 1973).

La diferenciación entre la erosión y la úlcera es su profundidad. La pérdida de la sustancia limitada a la mucosa, esto es la erosión, se cura mediante la regeneración epitelial sin formación de cicatriz, la lesión que se extiende a través de la *muscularis mucosae* se regenera mediante el desarrollo de tejido de granulación. Una úlcera aguda se caracteriza por unos bordes y un fondo en donde el tejido conjuntivo es escaso o no existe, en tanto que una úlcera crónica posee tejido fibroso abundante en sus bordes y en su base (Bokus y Henry, 1985).

En la úlcera duodenal, la característica más importante es el aumento de masa de las células parietales acompañado de un incremento en la capacidad secretora, además aumenta el ritmo de vaciamiento gástrico en pacientes con úlcera duodenal y esto ocasiona un aumento de carga ácida para el duodeno, sobre todo durante la segunda media hora después de la ingestión de alimentos, cuando gran parte de la proteína amortiguadora ha sido degradada o vaciada por el estómago (Sodeman y Sodeman, 1984; Smith y Thier, 1989).

2.2. Etiología y patología

La úlcera péptica es una zona de la mucosa erosionada por la acción digestiva del jugo gástrico, la localización más frecuente es a lo largo de la curvatura menor del estómago o en los primeros centímetros del duodeno. Además, también se pueden encontrar úlceras pépticas en el extremo inferior del esófago, donde con frecuencia se produce reflujo de jugo gástrico (Sodeman y Sodeman, 1984).

En las úlceras de tipo I, que se producen en el estómago, hay poca o ninguna hipersecreción de ácido. En las úlceras de tipo II abarcan tanto úlceras gástricas como úlceras antrales, prepilóricas y duodenales, caracterizándose por hipersecreción de ácido y trastornos de los efectos de retroalimentación negativa de la acidificación en la descarga de gastrina y la secreción sostenida de ácido ((Hoogerwef y Pasrichia, 2001).

El desarrollo de la úlcera péptica es el resultado de una zona localizada de necrosis y digestión del revestimiento del tubo digestivo. Esto deja una zona desnuda de moco en la mucosa, susceptible a la posterior digestión (Sodeman y Sodeman, 1984). La causa ordinaria de la ulceración péptica es el desequilibrio entre la secreción de jugo gástrico y el grado de protección producido por la barrera mucosa gastroduodenal y la neutralización del ácido gástrico por los jugos duodenales. Todas las zonas expuestas a la acción del jugo gástrico poseen gran cantidad de glándulas mucosas, comenzando por las glándulas mucosas del tercio inferior del esófago, luego las células mucosas de la pared del estómago y las células del cuello de las glándulas gástricas, más adelante las glándulas pilóricas profundas que producen moco y finalmente en el duodeno las glándulas de Brunner, con su secreción mucosa alcalina. En ocasiones la úlcera penetra

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

vasos sanguíneos causando hemorragia, o atraviesa completamente la pared intestinal, penetrando en órganos vecinos o creando una perforación libre en la cavidad peritoneal. Casi siempre hay actividad regeneradora, que en cualquier momento puede lograr la curación de la úlcera, especialmente si ésta se protege del jugo gástrico (Sodeman y Sodeman, 1984).

Las úlceras duodenales son causadas por la secreción excesiva de ácido y pepsina por las células gástricas. La causa usual pudiese ser una de las cuatro anomalías siguientes: a) posible secreción de un moco anormal que tiene un poder protector reducido; b) disminución de la secreción de moco; c) incapacidad de los mecanismos de retroalimentación duodeno gástricos normales para limitar la magnitud del vaciamiento gástrico hacia el duodeno d) incapacidad de los mecanismos de retroalimentación de secretina pancreática y secretina-conductos biliares para producir secreción de jugo pancreático y bilis lo suficientemente alcalinos como para neutralizar el jugo gástrico a su entrada en el duodeno (Lam, 1984; Spiro, 1987).

2.2.1. Factores asociados a la úlcera péptica

2.2.1.1. Infección por *Helicobacter pylori*

La infección por *H. pylori* está asociada con gastritis crónica y úlcera gastroduodenal. *H. pylori* es un bastoncillo gramnegativo que coloniza el moco y que se encuentra en la superficie luminal del epitelio gástrico. La infección por *H. pylori* causa gastritis inflamatoria y probablemente éste sea un factor contribuyente para úlcera péptica, linfoma gástrico y el adenocarcinoma (Blaser y Parsonnet, 1994).

2.2.1.2. Aspirina y antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)

Desde hace tiempo se ha relacionado el consumo de aspirina y otros AINEs con la úlcera gástrica. En los últimos años un considerable número de estudios epidemiológicos descriptivos y experimentales, han mostrado una clara relación entre el consumo de AINEs y la úlcera péptica, tanto de localización gástrica como duodenal y también con dos de sus complicaciones más graves como son la hemorragia digestiva y la perforación (Sáinz, *et al.*, 1997).

2.2.1.3. Tabaco

Tanto la úlcera gástrica como la duodenal son más frecuentes en fumadores. El tabaco retarda la cicatrización ulcerosa, incrementa las complicaciones y posiblemente la mortalidad. Además se han descrito varias acciones del tabaco, como una mayor secreción de ácido y pepsina, aceleración del vaciamiento gástrico originando una mayor carga ácida del duodeno, defectos en la secreción pancreática de bicarbonato, aumento del reflujo duodeno gástrico, disminución del flujo sanguíneo y disminución de prostaglandinas. Todos estos efectos son variables, por lo que es imposible señalar cuál de ellos es más importante (Sáinz, *et al.*, 1997).

2.2.1.4. Factores psíquicos

La teoría de que pacientes con problemas psíquicos desarrollan una personalidad ulcerosa fue propuesta por psicoanalistas. La teoría menciona que la situación psicosocial influye en la percepción de los síntomas, desde luego la importancia

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

atribuida a los mismos por el paciente y su entorno. Por otra parte, al erradicar al *Helicobacter pylori*, administrar fármacos antiulcerosos continuamente o intervenir a los pacientes, la úlcera casi siempre cesa en sus complicaciones y manifestaciones clínicas, independientemente de factores psicosociales. Por tanto es posible que los factores psíquicos contribuyan a la génesis del proceso, y en su repercusión sintomática (Sáinz, *et al.*, 1997).

2.2.1.5. Síndromes de hipersecreción ácida

La hipergastrinemia condiciona un estímulo secretorio continuo y, en consecuencia, niveles de acidez gástrica extremadamente elevados. En los tumores secretores de gastrina se observa el síndrome de Zollinger-Ellison así como en la adenomatosis endócrina múltiple tipo I. En el 90 al 95% de estos tumores se origina una úlcera duodenal. En la mastocitosis sistémica se produce una infiltración de muchos tejidos por células cebadas que secretan histamina condicionando una hiposecreción ácida y úlceras duodenales en un 30-50% de los casos (Sáinz, *et al.*, 1997).

2.2.1.6. Enfermedades asociadas

Entre las enfermedades asociadas a la úlcera péptica, que han sido comprobadas se encuentran la cirrosis hepática, insuficiencia renal crónica y el trasplante renal. En tanto que entre las enfermedades cuya asociación ha sido sugerida, se encuentran la artritis reumatoide, enfermedad coronaria, hiperparatiroidismo, litiasis renal, pancreatitis crónica y fibrosis quística (Sáinz, *et al.*, 1997).

2.3. Sintomatología

El dolor es el síntoma más notable de la úlcera péptica, que se caracteriza por su cronicidad y periodicidad en relación con la ingestión de alimentos (Smith y Thier, 1989). Se puede producir dolor en la zona lesionada, debido a la alteración de la motilidad de dicha área; esto por el aumento constante del tono muscular en la zona (Valadez, 1989). Además se presentan náuseas, vómitos, regurgitaciones, anorexia y pérdida de peso, éstos se pueden producir por hipersensibilidad de la zona lesionada. El vómito del jugo gástrico se presenta en caso de hipersecreción del mismo o por hipertonía del píloro o duodeno (Valadez, 1989; Jerzey, 1970). Se pueden presentar algunas complicaciones en la úlcera péptica como son: sangrado (la más frecuente), fenómenos obstructivos y penetración hacia órganos vecinos o hacia el peritoneo (Soll, 1994).

2.4. Modelos experimentales de úlcera

Los modelos experimentales de úlcera deben reproducir, tan cerca como sea posible, este padecimiento (Galvin y Szabo, 1992) y se realizan con el propósito de evaluar la eficacia de los tratamientos terapéuticos (Silen, 1988). La úlcera gástrica puede ser producida en ratas por una variedad de métodos tales como: ligadura del píloro, administración de etanol y fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), así como de agentes necrosantes y por estrés, algunos de estos métodos se describen brevemente a continuación.

2.4.1. Ligadura del píloro

Se realiza con la finalidad de que la secreción espontánea en el interior del estómago se acumule y que dicho jugo gástrico provoque una ulceración en la mucosa debido a la digestión ácido-pepsina. La preparación de la rata de esta manera proporciona una herramienta útil para evaluar agentes antiácidos, antipepsina y otros agentes antiulcerosos (Shay *et al.*, 1954).

2.4.2. Inducción de lesiones gástricas por etanol

Pueden producirse por la administración oral de etanol en cantidades que van de 0.5 a 2 mL a las concentraciones del 50 al 100 %. El estómago de las ratas se cubre con erosiones hemorrágicas y úlceras al examinarse después de 1-2 horas posteriores a la administración del etanol. Estudios efectuados por Szabo y colaboradores (1985) demuestran que la administración de etanol intragástrico produce un marcado incremento en la permeabilidad vascular, por lo que el daño vascular se presenta de 1-3 minutos ocurriendo esto antes de la aparición de las lesiones hemorrágicas graves (Szabo, *et al*, 1985).

El etanol a concentraciones altas promueve la solubilización de la superficie de la mucosa gástrica, agotamiento de la mucina intracelular con una difusión luminal de mucosustancias y liberación de bicarbonato y electrolitos a través del lumen. El etanol concentrado también causa una rápida destrucción de las células epiteliales de la mucosa con formación de áreas necróticas, haciendo posible la penetración de alcohol y de macromoléculas a través del tejido subyacente lo que ocasiona que el daño gástrico

pueda aumentar en su profundidad. El etanol absoluto libera enzimas lisosomales y citosólicas, las cuáles causan un daño más profundo a la mucosa. Al daño gástrico causado por el etanol, está asociado a una reducción de los niveles de moco y de grupos sulfhídrico (Szabo y Goldber, 1990).

2.4.3. Producción de úlcera por AINEs

Los AINEs tales como la indometacina o el ácido acetilsalicílico producen daño ya que bloquean la ciclooxigenasa enzima responsable de la síntesis de prostaglandinas, inhibiendo de esta forma la producción de prostaglandinas, y por atrapamiento de iones que resulta de la disociación ácida de los AINEs. En el estado ionizado los AINEs son solubles en agua por lo que son atrapados dentro de la célula, creando así un gradiente de concentración que favorece el movimiento de los iones disociados de ácidos orgánicos débiles en la mucosa gástrica. A pH menor a 3.5, el ácido acetilsalicílico está en su forma no disociada lo que la hace liposoluble por lo que puede ser transportada fácilmente a través de las membranas celulares (Szabo y Goldberg, 1990).

2.4.4. Inducción de úlcera por estrés

Se ha demostrado que cuando las ratas son sometidas a un estrés (ejercicio muscular forzado, dejándolas en frío, inmersión en agua, sección medular, etc.), se incrementa la secreción gástrica de ácido así como también se provoca una insuficiencia en el riego sanguíneo de la mucosa gástrica, ambas acciones están involucradas en la patogénesis de las lesiones provocadas en la mucosa gástrica. En algunos estudios se establece que la

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

hipercontractilidad tiene un papel muy importante en la formación de las lesiones de la mucosa gástrica (Nishiwaki, *et al*, 1989).

2.4.5. Producción de lesiones gástricas por agentes necrosantes

Para producir lesiones en la mucosa se emplean agentes necrosantes tales como ácido clorhídrico 0.6 M, hidróxido de sodio 0.2 M ó cloruro de sodio al 25% (Robert *et al*, 1983).

2.5. Tratamiento de la úlcera

Los fármacos empleados en la terapéutica de la úlcera péptica se clasifican en tres grandes grupos: antiácidos, antisecretores y citoprotectores (Hoogerwef y Pasrichia, 2001).

2.5.1. Antiácidos

En este grupo de fármacos se incluye a un grupo de compuestos inorgánicos cuya característica común es neutralizar el HCl. Los antiácidos pueden definirse como sustancias que consumen los protones (H^+) secretados por las células parietales, sin interferir directamente con los procesos de secreción. Los antiácidos más utilizados son los no absorbibles, principalmente sales de aluminio y magnesio. Los antiácidos absorbibles se usan en forma limitada en la actualidad, sin embargo el bicarbonato de sodio todavía tiene un amplio uso (Bettarello, 1985, Flórez y Espulgues, 1999).

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

Los principales problemas de los antiácidos se relacionan con su tiempo de acción corto, sus efectos adversos son constipación, diarrea, síndrome de lacto alcalosis, hipercalcemia, nefrolitiasis y bloqueo intestinal para la adsorción de fósforo (Bettarello, 1985).

2.5.2. Antisecretores

Dentro de este grupo de fármacos, se encuentran los antimuscarínicos, antagonistas de los receptores H₂, inhibidores de la bomba de protones y los bloqueadores de los receptores para la gastrina.

2.5.2.1. Antimuscarínicos

Este tipo de compuestos, como la pirenzepina y telenzepina bloquean los receptores muscarínicos del tipo M₁ e inhiben de esta forma la secreción gástrica estimulada por la acetilcolina (Bays *et al*, 1990, Flórez y Espulgues, 1999). Entre otros antimuscarínicos se encuentran también la metantelina, propantelina, y daranzepina (Bertaccini y Coruzzi, 1985). Entre los efectos adversos de estos fármacos se encuentran resequedad de boca, estreñimiento y visión borrosa (Flórez y Espulgues, 1999).

2.5.2.2. Antagonistas de los receptores H₂

Este grupo de compuestos compete con la histamina de forma específica y reversible por los receptores H₂, encargados de estimular la producción de ácido por la célula parietal. Los antagonistas H₂ disminuyen la producción de HCl desencadenada por la histamina y

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

en menor medida por acetilcolina y pentagastrina con lo que muestran un espectro inhibitorio amplio, por ello reducen la secreción ácida basal y la provocada por estímulos fisiológicos, como los alimentos, la distensión gástrica, etc. (Flórez y Espulgues, 1999). El primero en uso clínico fue la cimetidina, la cual retiene el anillo imidazol de la histamina. En los productos más recientes, el anillo imidazolico es reemplazado por un furano (ranitidina) o un tiazol (famotidina, nizatidina y ebrotidina) ((Hoogerwef y Pasrichia, 2001), 1996). La ebrotidina combina una actuación antisecretora con un potente efecto protector de la mucosa, consecuencia de su capacidad estimulante de la actividad proliferante de las células epiteliales y de modificar las propiedades fisicoquímicas del moco gástrico, en particular, su contenido en sulfomucinas y fosfolípidos (Flórez y Espulgues, 1999). Actualmente se encuentra en estudio un nuevo fármaco el denominado IT-066, un antagonista de los receptores H_2 (Otsuka *et al.*, 2000). Los efectos adversos más comunes de algunos de estos fármacos son desórdenes mentales e incremento de creatinina y transaminasa en el plasma (Flórez y Espulgues, 1999).

2.5.2.3. Inhibidores de la ATPasa H^+/K^+ , (Bomba de protones)

Este grupo de compuestos actúa selectivamente sobre el eslabón final del proceso de secreción ácida gástrica, la ATPasa- H^+/K^+ o bomba de protones, por lo que también se les denomina inhibidores de la bomba de protones. Esta enzima representa un paso obligado en el proceso de secreción de H^+ , por lo cual la capacidad inhibitoria de estos fármacos es independiente del estímulo desencadenante de la producción del ácido. El

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

omeprazol es el compuesto principal de esta familia, otros compuestos pertenecientes a esta familia son pantoprazol y lansoprazol los cuales son derivados de bencimidazol (Flórez y Espulgues, 1999).

El omeprazol es un profármaco, ya que el mismo no interacciona con la bomba de protones, sino que requiere de la conversión a un compuesto tetracíclico activo por el medio ácido existente en el canalículo secretor de la célula parietal. Este compuesto reacciona rápidamente formando uniones disulfuro con los residuos de cisteína de la cadena α del sector luminal de la ATPasa- H^+/K^+ y origina el denominado complejo inhibitorio (Flórez y Espulgues, 1999).

El lansoprazol y pantoprazol tienen un mecanismo de acción idéntico al omeprazol, son profármacos puesto que no inhiben directamente la actividad de la ATPasa- H^+/K^+ , sino que actúan por sus dos metabolitos activos (Flórez y Espulgues, 1999). El esomeprazol es un isómero del omeprazol pero difiere mucho de este respecto a sus propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas dándole varias ventajas desde el punto de vista clínico, en comparación con el omeprazol logra un mejor control de la acidez (Aztra-Zeneca, 2002)

Las reacciones adversas más habituales para estos compuestos son episodios de diarrea, náuseas, mareos y jaqueca, también se han descrito algunos casos de erupción cutánea. Estas manifestaciones son casi siempre transitorias y de intensidad moderada, sin que se requiera reducir la dosis del compuesto (Flórez y Espulgues, 1999).

Actualmente se encuentra en estudio el TU-199 como fármaco inhibidor de la ATPasa- H^+/K^+ (Uchiyama, *et al*, 1999).

2.5.2.4. Antagonistas de la gastrina

Se ha descrito un gran número de sustancias que funcionan como antagonistas de la gastrina, por su gran similitud estructural con la colecistocinina. Entre ellos se incluyen derivados del ácido glutarámico (proglumida,), análogos del triptófano (benzotript), análogos de las benzodiazepinas (L365, 260). Todos estos compuestos inhiben en mayor o menor medida la interacción de la gastrina con su receptor. Sin embargo, en la actualidad no existe aplicación clínica de ningún antagonista de los receptores para la gastrina, sólo representan una posibilidad teórica sin que se haya demostrado su utilidad práctica (Flórez y Espulgues, 1999). Entre los compuestos en desarrollo de este tipo de fármacos se encuentra el CR 2940 (Makovec, *et al*, 1999).

2.5.3. Citoprotectores

La citoprotección es la propiedad que tienen ciertos compuestos como las prostaglandinas, para proteger varios órganos del aparato digestivo (tracto gastrointestinal, hígado y páncreas) del daño causado por agentes nocivos (Szabo y Goldberg, 1990).

La citoprotección gástrica puede también definirse como una prevención de la hemorragia causada por el daño de la mucosa gástrica, sin la inhibición de la secreción ácida. El fenómeno citoprotector ha sido estudiado principalmente en el tracto gastrointestinal, particularmente en el estómago de rata, donde se han identificado dos tipos de citoprotección, una directa y otra adaptativa (Konturek, 1990).

Se conoce como citoprotección directa a la protección de la mucosa gástrica

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

(gastroprotección) provocada por la administración de prostaglandinas exógenas que protegen a la mucosa gástrica contra sustancias necrosantes, tales como etanol 100%, HCl 0.6 M, NaOH 0.2M, NaCl 25%, o agua hirviendo. Estas sustancias necrosantes son consideradas irritantes fuertes (Konturek, 1990, Tsukimi y Okabe, 2001).

La citoprotección adaptativa se ha denominado así debido a que está mediado por la liberación endógena de las prostaglandinas de la mucosa gástrica (Kounturek, 1990; Szabo y Goldberg, 1990, Tsukimi y Okabe, 2001). Puede ser inducida por la aplicación de ciertos irritantes a bajas concentraciones tales como: etanol 20%, taurocolato 20 mM, NaCl del 2-4 %, HCl del 0.2-0.35 M, NaOH 0.02 M, café, chile ó agua a 70 °C, a estos irritantes se les llama, irritantes suaves, los cuales previenen las lesiones macroscópicas de la mucosa provocada por agentes necrosantes fuertes (Robert, *et al.*, 1983, Tsukimi y Okabe, 2001).

La importancia de las prostaglandinas endógenas en la modulación de los mecanismos de defensa de la mucosa, se deriva de diversas observaciones que apuntan a que los AINEs, potentes inhibidores de la síntesis de prostaglandinas, son capaces de dañar a la mucosa gástrica. La generación local de prostaglandinas en la mucosa gástrica es considerada como la responsable de la adaptación de la mucosa al ataque de agentes irritantes (Robert, 1979; Peskar y Maricic, 1998).

Debido a que las prostaglandinas incrementan el flujo sanguíneo en la mucosa gástrica, se ha sugerido que el efecto citoprotector se debe a respuestas vasculares a agentes nocivos, aunque éste no es el único mecanismo de protección implicado. Al respecto se sabe que las prostaglandinas además son capaces de estimular la secreción basal de

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

moco y bicarbonato incrementando con ello, el gradiente de pH en el epitelio gastroduodenal. También las prostaglandinas reducen la secreción de ácido e incrementan la capa de los fosfolípidos. Estudios microscópicos han revelado que el mayor impacto citoprotector de las prostaglandinas es a nivel de la submucosa y no tanto en la superficie de la mucosa (Konturek *et al.*, 1987; Shorrock y Rees, 1988).

2.5.3.1. Mecanismos de citoprotección

En general, los mecanismos de la mucosa gástrica, para protegerla de los factores agresivos tales como el ácido clorhídrico, la bilis, fármacos anti-inflamatorios no esteroideos y varios tipos de estrés, consisten en factores funcionales, humorales y neuronales. La secreción de moco alcalino, la capa de fosfolípidos, la microcirculación y la motilidad constituyen los factores funcionales, en tanto que las prostaglandinas y el óxido nítrico actúan como factores humorales y finalmente dentro el grupo de los factores neuronales están las neuronas sensibles a capsaicina.(Tsukimi y Okabe, 2001).

2.5.3.2. Factores funcionales

El moco gástrico forma una barrera de defensa contra factores potencialmente dañinos, debido a sus propiedades de: firme adherencia al epitelio, impermeabilidad general a agentes químicos, impermeabilidad específica a la pepsina, propiedades de absorción y acción de amortiguador. Habitualmente, dicha capa mucosa se elimina continuamente y al mismo tiempo se sustituye a velocidad uniforme; si la velocidad de eliminación, es mayor que la de producción, la mucosa no cumple su acción protectora. La

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

reproducción epitelial que tiene el estómago es enorme; más o menos cada 36 a 48 horas, se recambia por completo el epitelio gástrico (Valadéz, 1989).

La secreción de bicarbonato a través de la mucosa gastrointestinal forma parte de la barrera moco-bicarbonato del estómago, éste neutraliza al ácido que se encuentra en la mucosa gástrica y duodeno, y en consecuencia contribuye a la protección de la mucosa gástrica (Allen *et al.*, 1992, Tsukimi y Okabe, 2001).

El flujo sanguíneo adecuado en la mucosa gástrica, desempeña un papel importante en la protección de la misma, debido a que existe una liberación de oxígeno, nutrientes y bicarbonato, que contribuyen a regenerar la superficie del epitelio, asimismo, también eliminan los iones hidrógeno que penetraron la barrera epitelial, se tiene el conocimiento de que una reducción en el flujo sanguíneo, favorece la ulceración de la mucosa gástrica (Shorrock y Ress, 1988).

Se ha observado que después de un tratamiento con irritantes suaves se presenta un incremento en la afluencia sanguínea de la mucosa gástrica, sin embargo dicho incremento se inhibe cuando se administra indometacina o con una administración previa del éster metílico de la N-nitro-L-arginina (L-NAME), lo que da como resultado un agravamiento de las lesiones provocadas por sustancias irritantes, lo cual sugiere que la microcirculación tiene un papel muy importante en la protección de la mucosa gástrica. También se ha sugerido que la motilidad juega un papel muy importante en la prevención de las lesiones provocadas por estrés así como por los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (Tsukimi y Okabe, 2001).

2.5.3.3. Factores humorales

Las prostaglandinas son sintetizadas a partir del ácido araquidónico por las ciclooxigenasas COX-1 y COX-2. La COX-1 es una isoforma constitutiva que se expresa en el estómago, riñón y plaquetas, se considera importante en la protección de la mucosa, en tanto que la COX-2, es una isoforma inducible la cual se manifiesta en respuesta a varios estímulos proinflamatorios, tales como mitógenos, hormonas, y citocinas, produciéndose en los sitios inflamados donde produce prostaglandinas que median las clásicas señales en un proceso inflamatorio, edema, dolor, calor y enrojecimiento. Las prostaglandinas endógenas tienen varias funciones en el estómago, siendo estas el incremento en la producción de moco alcalino, regulación del flujo sanguíneo y la inhibición de la motilidad gástrica. Las prostaglandinas tales como E₂ y la I₂ protegen la mucosa gástrica por mantenimiento de una hidrofobicidad de la superficie del epitelio, estimulando la producción de moco epitelial y la secreción de bicarbonato, incrementando el flujo sanguíneo local y promoviendo la rápida proliferación y diferenciación celular después del daño a la mucosa. Las prostaglandinas que son producidas en el estómago tienen un papel muy importante en el mantenimiento de la integridad de la mucosa (Giercksky *et al.*, 2000).

Partiendo del conocimiento de que los AINEs producen daño a la mucosa intestinal, al bloquear la actividad de la COX-1 y COX-2, y que los inhibidores selectivos no dañan la mucosa gástrica, se ha propuesto que exclusivamente las prostaglandinas derivadas de la COX-1, están involucradas en los mecanismos de defensa de la mucosa gástrica, (Peskar y Maricic, 1998, Giercksky, *et al.*, 2000 y Davies, *et al.*, 2000) no obstante se ha

observado que los inhibidores selectivos de la COX-2, retrasan la curación de úlceras gástricas producidas en animales, lo cuál indica que la COX-2, está también implicada en la defensa del daño gástrico (Peskar y Maricic, 1998, y Peskar *et al*, 2001).

Por otro lado el óxido nítrico (NO) juega un papel multifacético en el mantenimiento de la integridad de la mucosa gástrica, regula la secreción de moco, la motilidad gástrica y la microcirculación (Tsukimi y Okabe, 2001). El NO es sintetizado a partir del nitrógeno terminal de guanidina del aminoácido L-arginina, por la enzima sintasa de óxido nítrico (NOS). Existen tres isoformas de la sintasa del óxido nítrico que han sido caracterizadas de acuerdo a su origen celular. Inicialmente fueron identificadas las dos isoformas constitutivas (cNOS) dependiente de Ca^{2+} /calmodulina, la NOS neuronal (nNOS) y la NOS endotelial (eNOS), en neuronas y en el endotelio respectivamente.

La sintasa del óxido nítrico constitutiva (cNOS), se expresa en condiciones normales. El óxido nítrico liberado por estas enzimas actúa como un mecanismo de transducción de varias respuestas fisiológicas. La tercera NOS es una isoforma inducible (iNOS) que es independiente de Ca^{2+} y que es inducida por la exposición a citocinas, lipopolisacáridos y el factor α de necrosis tumoral en varios tipos de células, incluyendo células inflamatorias. El óxido nítrico liberado por la iNOS actúa como una molécula citotóxica contra la invasión por microorganismos y contra células tumorales. Las tres isoformas de la NOS se han identificado en el tracto gastrointestinal.

La inhibición de la sintasa de óxido nítrico se logra con agentes aglutinantes de flavoproteínas, aglutinantes de calmodulina y agentes mermadores de tetrahidrobiopterina. Sin embargo, los más ampliamente utilizados son análogos

estructurales de la L-arginina, entre los que se encuentran sustancias tales como N^G-nitro- L-arginina (L-NNA), N^G-metil-L-arginina (L-NMMA) y el éster metílico de la N^G-nitro-L-arginina (L-NAME), estos análogos no son selectivos para una isoforma específica. Actualmente se dispone de algunos inhibidores considerados selectivos de las isoformas de las NOS, entre los que se puede citar al 7-nitroindazol y compuestos análogos, para la nNOS; aminoguanidina, L-N6-(1-iminoetil) lisina y derivados S-alquilados de la isotiurea para la iNOS (Hobbs *et al.*, 1999). En condiciones básales el NO interactúa con neuropéptidos y prostaglandinas para mantener la integridad de la mucosa. De tal forma que, aunque la inhibición de la síntesis de óxido nítrico, por si sola no causa daño gástrico, las lesiones aparecen si el tratamiento se combina con una atenuación de las neuronas sensoriales después del tratamiento con capsaicina o por la administración de una dosis no ulcerogénica de indometacina (Calatayud *et al.*, 2001). En ausencia de condiciones dañinas exógenas, una combinación de los tres tratamientos (inhibición de la formación de NO, inhibición de la síntesis de prostaglandinas y atenuación de neuronas sensoriales), producen daño masivo en la mucosa gástrica, lo que indica claramente que la integridad de la mucosa depende de la acción coordinada de estos tres sistemas (Whittle *et al.*, 1992). Se ha sugerido que existe una interacción dinámica, en la que, cuando un elemento es suprimido, otro asume su función (Flisher *et al.*, 1999).

Los agentes donadores de NO exógeno tales como nitroglicerina y nitroprusiato de sodio, incrementan la resistencia de la mucosa al daño. Estos compuestos inhiben los daños hemorrágicos de la mucosa gástrica inducidas por HCl 50 mM o etanol al 70 %.

Por el contrario, los inhibidores de la NOS tales como el L-NAME y L-NNA inhiben la acción citoprotectora de los irritantes suaves, por lo que se considera que el NO tiene un papel muy importante en el mantenimiento de la integridad de la mucosa (Tsukimi y Okabe, 2001)

2.5.3.4. Factores neuronales

Existen evidencias morfológicas y funcionales de que las neuronas sensibles a capsaicina inervan el tracto gastrointestinal. Se ha propuesto que estas neuronas contribuyen a la protección de la mucosa (Holzer y Sametz, 1986). Se ha demostrado que la aplicación local de capsaicina da como resultado una activación neuronal y liberación de neuropéptidos, tales como sustancia P, calcitonina y neuroquinina. Se ha comprobado que la abolición de los nervios sensoriales agravan las lesiones de la mucosa provocadas por agentes necrosantes. La administración local de capsaicina causa una respuesta hiperémica en la mucosa gástrica, que es inhibida por la abolición de los nervios sensoriales, lo cual sugiere que las neuronas sensoriales regulan la afluencia sanguínea de la mucosa (Tsukimi y Okabe, 2001).

2.5.4. Fármacos citoprotectores

Aunque las prostaglandinas fueron las primeras sustancias en clasificarse como citoprotectoras, actualmente se incluyen dentro de éste grupo a ciertas sustancias que tienen una actividad semejante al de las prostaglandinas. Entre los compuestos citoprotectores se incluye al sucralfato, sales de bismuto y carbenoxolona.

2.5.4.1. Sucralfato

Es una compleja sal de sacarosa, sulfato e hidróxido de aluminio, con un pH gástrico bajo, se polimeriza y origina una pasta pegajosa cargada negativamente que se adhiere de modo selectivo a las proteínas o restos proteicos del cráter ulceroso, cargadas positivamente, formando una barrera protectora que impide la actuación del ácido y la pepsina sobre la zona lesionada. Se une también a la mucosa sana, pero la afinidad por las zonas lesionadas es mayor (Flórez y Espulgues, 1999). Es probable que esta unión con los cráteres ulcerosos represente la principal acción terapéutica del sucralfato. Este compuesto estimula la formación de prostaglandinas en la mucosa gástrica, ejerciendo así una acción "citoprotectora" (Ligumsky *et al.*, 1984), se ha descrito que el sucralfato estimula el transporte de bicarbonato hacia la mucosa gástrica y duodenal, así como también incrementa la viscosidad del moco y mantiene un flujo sanguíneo adecuado en las células subepiteliales gástricas (Rees, 1991).

El sucralfato es bien tolerado y son muy pocos los casos en que es necesario interrumpir el tratamiento. El tratamiento con sucralfato obliga a reajustar la dosis de muchos fármacos debido a que éste modifica su absorción y biodisponibilidad (Flórez y Espulgues, 1999).

2.5.4.2. Compuestos de bismuto

Las preparaciones de Bismuto trivalente tienen propiedades terapéuticas y son utilizadas mundialmente. El subsalicilato de bismuto (Pepto-Bismol ®) y el subcitrato de bismuto coloidal (SBC), son tal vez los productos de mayor aplicación terapéutica. Aunque estos

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

compuestos no tienen la capacidad neutralizante de ácido sino que inhiben a la pepsina, aumentan la secreción de moco e interactúan con proteínas en el cráter necrótico de la úlcera, tal vez formando una barrera a la difusión del ácido. Los coloides de bismuto también producen desprendimiento y adsorción de *Helicobacter pylori* del epitelio gástrico, con la consiguiente eliminación de la bacteria ((Hoogerwef y Pasrichia, 2001). Aún cuando es necesaria la terapia combinada triple y cuádruple con metronidazol, antibióticos y antisecretor (Hoogerwef, y Pasricha, 2001.)

Los efectos tóxicos de los compuestos de bismuto son apatía, ataxia moderada, cefalgia en las primeras fases, progresando a saltos mio-clónicos, disartria, confusiones severas, alucinaciones, pequeños estados epilépticos y el advenimiento de la muerte. En estudios neuropatológicos se encontraron concentraciones altas de bismuto distribuidos en el cerebro (Gorbach, 1990).

2.5.4.3. Carbenoxolona

La carbenoxolona es un triterpeno pentacíclico derivado de la hidrólisis del ácido glicirrizico; fue uno de los primeros medicamentos empleados contra úlcera y no afecta la secreción gástrica. Se han propuesto varios mecanismos de acción para explicar su actividad biológica, entre ellos se sugiere que estimula la producción de moco gástrico, incrementa la velocidad de incorporación de varios azúcares a las glicoproteínas del interior de la mucosa gástrica, promueve la proliferación de las células de la mucosa, inhibe la exfoliación de las células de la mucosa, incrementa la producción de prostaglandinas e inhibe a las enzimas que las metabolizan, reduce la formación de

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

tromboxano y regula la velocidad de síntesis de DNA y proteínas de la mucosa gástrica. Recientemente se ha relacionado el óxido nítrico, como un factor que contribuye a su efecto antiulceroso (Takeuchi *et al.*, 1998, Borrelli e Izzo, 2000). Se ha observado que en biopsias gástricas inhibe el metabolismo de las prostaglandinas del tipo PGE₁, PGE₂ y PGI₂ e incrementa la liberación de PGE₂ (Wan y Gottfried, 1985).

Sin embargo debido a sus numerosos efectos secundarios el uso de la carbenoxolona es limitado, ya que produce efectos similares a los de la aldosterona, lo cuál puede provocar retención de sodio e hipocalcemia, asociada con hipertensión, edema y enfermedades cardíacas (Borrelli e Izzo, 2000).

2.5.4.4. Análogos de las prostaglandinas

Las prostaglandinas más importantes a nivel gástrico son la PGE₁ y la PGE₂, y la prostaciclina PGI₂, que desempeñan un gran papel en la defensa frente a la agresión. En la mucosa actúan como vasodilatadores, incrementan la producción de moco y bicarbonato, estabilizan los lisosomas celulares y estimulan los fenómenos de diferenciación y proliferación celular tras una agresión. La brevedad de acción de los compuestos naturales ha promovido el desarrollo de análogos sintéticos con mayor duración de acción: el misoprostil y el rioprostil, como derivados de la PGE₁, y arbaprostil, emprostil y trimoprostil, como derivados de la PGE₂. Los efectos adversos más comunes, son el dolor abdominal y la diarrea, aunque también pueden provocar calambres abdominales y contracción uterina con posibilidad de abortos. Su principal aplicación terapéutica es la profilaxis de la úlcera gastroduodenal en pacientes tratados

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

con antiinflamatorios no esteroidales (Flórez y Espulgues, 1999).

2.5.5. Citoprotección independiente de prostaglandinas

Esta protección incluye sustancias citoprotectoras que no estimulan la biosíntesis de prostaglandinas en la mucosa gástrica. Entre estos compuestos se encuentra grupos sulfhidrilos, factor de crecimiento epidérmico, somatostatina, meciadanol y algunos antibióticos.

2.5.5.1. Grupos sulfhidrilos

En 1981 Szabo reportó que los compuestos que contienen grupos sulfhidrilos protegen a las ratas de las erosiones inducidas por etanol. De estas observaciones se deduce que los grupos sulfhidrilos son citoprotectores de la mucosa gástrica y pueden mediar la citoprotección inducida por prostaglandinas. Los grupos sulfhidrilos son requeridos para la síntesis de prostanoides y para la activación de los receptores de las prostaglandinas y ellos mismos son directamente responsables de la defensa de la mucosa ya que influyen en la permeabilidad de la membrana, adhesión de las células y liberación de radicales libres (Szabo *et al*, 1981; Konturek *et al*, 1987, Shorrock y Ress, 1988).

2.5.5.2. Factor de crecimiento epidérmico

El factor de crecimiento epidérmico es un polipéptido producido por las glándulas salivales y de Brunner. Estimula la síntesis del ARN y ADN en la mucosa, además favorece el crecimiento y la diferenciación celular y acelera la reparación de la mucosa.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

Es un poderoso inhibidor de la secreción ácido gástrica pero a dosis no antisecretoras ha mostrado que protege al estómago de las erosiones agudas producidas por aspirina, se ha demostrado que es tan efectivo como la cimetidina en la curación de las úlceras duodenales crónicas en ratas, además también previene la formación de las úlceras producidas por estrés en ratas, dicho efecto puede estar mediado por la somatostatina endógena. Sin embargo, el papel del factor de crecimiento epidérmico en la defensa gastroduodenal humana no ha sido del todo definida (Shorrock y Ress , 1988; Allen *et al.*, 1992).

Se ha encontrado que fármacos antiulcerosos tales como el sucralfato y bismuto coloidal enlazan el factor de crecimiento epidérmico y lo transportan al área ulcerada (Konturek, 1988).

2.5.5.3. Meciadanol

El meciadanol es un inhibidor de la actividad de la histidina descarboxilasa, y tiene una potente acción gastroprotectora contra el daño producido por etanol y aspirina lo que puede deberse a la disminución de la formación de histamina en la mucosa (Konturek, 1990).

2.5.5.4. Sulglicótido

El sulglicótido es un glicopéptido en forma de sal de sodio. Éste se comporta como un agente que cubre la mucosa y su acción citoprotectora parece estar relacionada a la estimulación de la producción de prostaglandinas gastrointestinales e interviene en el

mecanismo de estabilización de la estructura lisosomal en las células de la mucosa ((Hoogerwef y Pasrichia, 2001).

2.5.5.5. Alginato

El alginato es un compuesto capaz de poner una barrera mecánica al reflujo esofágico del contenido gástrico ácido o no ácido. La actividad terapéutica del ácido algínico y de alginatos, deriva en una transformación local de la suspensión de este polímero por el jugo gástrico el cual protege mecánicamente a la mucosa gástrica de lesiones inducidas por ácido clorhídrico, reduce la acidez del jugo gástrico y evita el reflujo esofágico (De Vicentis *et al.*, 1991).

III. METABOLITOS AISLADOS DE PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIULCEROSA

3.1. Flavonoides

Los flavonoides son un grupo de más de 4000 compuestos que se pueden encontrar en la naturaleza, con una amplia gama de efectos biológicos, incluyendo la actividad antiulcerosa. Los flavonoides se encuentran como constituyentes en la dieta humana, la cuál contiene aproximadamente 1g por día, y también se hallan en varias plantas medicinales que son utilizadas en diferentes partes del mundo. Se han propuesto varios mecanismos para explicar los efectos gastroprotectores de los flavonoides; incluyendo un incremento en el contenido de prostaglandinas en la mucosa, disminución en la

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

secreción de histamina por inhibición de histidina descarboxilasa e inhibición del crecimiento de *Helicobacter pylori*. Además, se ha encontrado que los flavonoides atrapan radicales libres, teniendo estos un papel muy importante en las lesiones ulcerosas y erosiones del tracto gastrointestinal. En relación a sus propiedades se reporta baja toxicidad, por lo que los flavonoides pueden potencialmente ser ideales para el tratamiento de las enfermedades gastrointestinales asociadas con infecciones por *Helicobacter pylori* (Borrelli e Izzo, 2000).

Algunos de los flavonoides que muestran actividad antiulcerosa y que más se han estudiado son: quercetina, narigina, similarina, antocianósidos y derivados de soforadina (Borrelli e Izzo, 2000) y epicatequina (Navarrete *et al* .,2002.)

3.2. Saponinas

Varias plantas que contienen grandes cantidades de saponinas, en forma de glucósidos, han mostrado actividad antiulcerosa, en diferentes modelos de inducción de úlcera (Borrelli e Izzo, 2000).

De las flores de *Spartium junceum* se aisló una saponina del tipo oleonano, la cuál posee una potente actividad antiulcerosa en el modelo de inducción de úlcera por etanol en ratas, la estructura de la saponina ha sido identificada y llamada comúnmente spartitrioso (Yesilada y Takaishi, 1999).

Otra saponina que posee actividad gastroprotectora es Momordin Ic, aislada del fruto de *Kochia scoparia*, esta saponina inhibe las lesiones gástricas producidas por etanol e indometacina, en ratas. Para este compuesto se ha propuesto que en su mecanismo

gastroprotector las neuronas sensibles a capsaicina desempeñan un papel muy importante, en tanto que la participación de las prostaglandinas endógenas, el óxido nítrico, y los grupos sulfhidrilos participan de un modo interactivo (Matsuda *et al*, 1999).

Las saponinas aisladas del rizoma de *Panas japonicus* y del fruto de *Kochia scoparia* han demostrado propiedades gastroprotectoras, la actividad no es debida a la inhibición de la secreción de ácido gástrica si no que probablemente se deba a la producción de moco y factores protectores de la membrana (Borrelli e Izzo, 2000).

De la semilla de *Aesculus hippocastanum* se han aislado una mezcla de saponinas, entre ellas la Aescina, que ha mostrado actividad antiulcerosa en varios modelos de inducción, como son sometimiento a frío y ligadura del píloro, dicha actividad la produce al inhibir la secreción de pepsinógeno y de ácido gástrico, asimismo la Aescina, previene las lesiones gástricas causadas por la administración de etanol absoluto, sin embargo en este modelo, la inhibición de ácido y pepsina, no desempeñan un papel importante, lo cuál sugiere el involucramiento de otros mecanismos (Borrelli e Izzo, 2000).

3.3. Taninos

Se ha reportado que los taninos tienen actividad astringente y antiulcerosa. Los taninos modifican la capa más externa de la mucosa, la vuelven menos permeable, más resistente al daño químico, mecánico e irritación sin embargo la correlación entre la estructura molecular de los taninos y la actividad astringente/anti-ulcerosa no se conoce

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

bien (Borrelli e Izzo, 2000).

La aplicación de concentraciones bajas de taninos solo modifica la capa más externa de la mucosa, la vuelve menos permeable y se produce un incremento en la protección en las capas subyacentes en contra de la acción de las bacterias e irritación química. Las altas concentraciones de taninos causan coagulación de las proteínas de la capa profunda de la mucosa, dando como resultado inflamación, diarrea y vómito (Borrelli e Izzo, 2000).

Varias plantas que presentan actividad anti-ulcerosa contienen taninos, por lo que dicha actividad se atribuye a la presencia de los mismos. Entre las plantas que poseen taninos se encuentra el extracto crudo de *Linderae umbellatae* que presentó actividad anti-péptica y anti-ulcerosa (Borrelli e Izzo, 2000), y el extracto acuoso de *Rhizophora mangle* L. el cual presentó efecto antiulceroso (Sánchez *et al*, 2001).

3.4. Gomas y mucilagos

Las gomas y mucilagos son sustancias usualmente quebradizas, amorfas, transparentes o translúcidas, fácilmente se absorben en agua dando una masa gelatinosa y las soluciones resultantes son viscosas y coloidales. Los fármacos mucilaginosos tienen la propiedad de cubrir y proteger la mucosa del estómago por lo que son usados para el tratamiento de la úlcera gástrica. Las plantas que contienen mucilagos son tradicionalmente usadas en varias partes para el tratamiento de la úlcera gástrica entre ellas se encuentran *Althaea officinalis*, *Cetraria islandica*, *Malva sylvestris*, *Matricaria chamomilla* y especies de *Aloe* (Borrelli e Izzo, 2000).

3.5. Diterpenoides

De la corteza de *Croton cajucara Benth*, la cual se emplea en la medicina tradicional de Brazil, para tratamiento de enfermedades gastrointestinales, se aislaron los siguientes compuestos: dehidrocrotonina, que presentó esta actividad antiulcerosa, trans-dehidrocrotonina la cual reduce el índice de lesiones gástricas, y el compuesto trans-crotonina que junto con dehidrocrotonina, inhiben in vivo la secreción de ácido (Hiruma-Lima *et al*, 1999., Maciel *et al*, 2000).

3.6. Triterpenoides

El ácido oleanólico el cual se encuentra presente en especies como *Prosopis glanulosa*, *Calendula*, *Helianthus* y *Solidago*, es un triterpeno que presenta actividad antiulcerosa en úlceras inducidas por aspirina, indometacina, reserpina y tetragastrina. Se ha propuesto que el ácido oleanólico promueve la producción de prostaglandinas (Gupta *et al.*, 1981; Snykers y Fourie, 1983). Otros ejemplos de triterpenoides son el acetato de lupeol aislado de *Spilanthes ocyimifolia*, el taraxerol aislado de *Taraxacum officinale* y el ácido ursólico aislado de *Psychotria adenophylla* que inhiben las ulceraciones causadas por el estrés en ratas (Gupta *et al.*, 1981; Snykers y Fourie, 1983) , también el ácido acetil aleurítico aislado de *Croton cajucara*, disminuye *in vitro* la secreción basal de ácido inducida por histamina (Maciel. *et al*, 2000). Los triterpenos α y β amirina, aislados de *Hippocratea excelsa*, inhiben la formación de lesiones causadas por etanol (Navarrete *et al.*, 2002).

La actividad antiulcerosa de β -sitosterol y su glucósido ha sido descrita por

investigadores chinos (Ling y Jones, 1995) y se han encontrado como activos de *Hippocratea excelsa* (Navarrete *et al.*, 2002).

3.7. Sesquiterpenoides

Los sesquiterpenoide (saussureaminas A,B,C,D y E) extraídos de las raíces de *Saussurea lappa*, presentan una potente actividad antiulcerosa (Yoshikawa *et al.*, 1993). La sal sódica del sesquiterpeno 4-metilazuleno-1-carboxílico, aislados de *Calypogeia azurea* presenta actividad antiulcerosa (Nakagawara *et al.*, 1992).

3.8. Alcaloides

La atropina, aislada de *Atropa belladonna*, fue utilizada como antiulcerosa (Pendleton *et al.*, 1987). Por su acción antisecretora, al inhibir la acción de la acetilcolina.

Los alcaloides de *Scopolia* (scopolamina, anisodina y anisodanina) fueron efectivos agentes antiulcerosos en modelos de inducción de úlcera gástrica por stress, con indometacina y con ácido acético en ratas. Los alcaloides de *Scopolia* pueden inhibir la secreción de ácido gástrico y la actividad de la pepsina e incrementar la barrera de la mucosa gástrica, lo que sugiere que estas acciones pueden contribuir a su efecto antiulceroso (Zhang *et al.*, 1990).

De la raíz de *Sophora subprostrata* se ha aislado a la matrina y a la oximatrina. Estos alcaloides inhiben la secreción gástrica en ratas a una dosis de 10-50 mg/kg e inhiben la formación de úlcera a 250 mg/kg (Yamazaki, 1983).

3.9. Polisacáridos

Un polisacárido aislado de *Aloe chinese* presentó actividad contra úlceras gástricas inducidas por estrés (inmersión en agua), indometacina y etanol en ratón (Zhong y Zhou, 1995).

Una fracción de polisacáridos denominada BR-1 solubles en agua preparada a partir de las raíces de *Bupleurum falcatum* presentaron actividad gastroprotectora en las úlceras inducidas por HCl—etanol en ratón. El BR-1 se fragmentó en cuatro fracciones polisacáridas (BR-2, BR-3, BR-4 y BR-5) por la adición de bromuro de cetiltrimetilamonio, la fracción BR-2 presentó la mayor inhibición en la formación de lesiones gástricas (Yamada *et al.*, 1991). La administración oral de BR-2 inhibió de manera dependiente de la dosis la formación de las lesiones gástricas inducidas por agentes necrosantes tales como HCl-etanol y etanol. El efecto protector se observó después de la administración oral, intraperitoneal y subcutánea de BR-2. Además el BR-2 inhibió la formación de úlceras gástricas inducidas por estrés y ligación del píloro. Los niveles de prostaglandina E2 presente en el jugo gástrico de las ratas y en la mucosa de los ratones no fue modificada por la administración oral de BR-2 (Sun *et al.*, 1991).

3.10. Aceites

El aceite volátil de *Hyptis mutabilis* Briq, previene o reduce la formación de úlceras en la mucosa gástrica de ratas, inducidas por indometacina administrada por vía subcutánea. El mecanismo de acción de este aceite es desconocido (Barbosa y Ramos, 1992).

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

La emulsión formada con aceite de la semilla de *Brucea javanica*, inhibió significativamente las lesiones gástricas inducidas por ligación del píloro, aspirina, estrés y úlcera gástrica crónica por ácido acético en ratas (Xue *et al.*, 1996).

El aceite de *Ocimum sanctus* L. posee actividad antiulcerosa contra las lesiones producidas por la administración de aspirina-indometacina, histamina, reserpina, serotonina y por sometimiento a estrés, para dicho aceite también se observó una inhibición de la secreción gástrica en el modelo de inducción de úlcera por la administración de aspirina y ligadura del píloro en ratas. Los mecanismos propuesto para la actividad antiulcerosa que presenta este aceite, son a través de la inhibición de la lipooxigenasa, actuando como antagonista de histamina así como ejerciendo un efecto antisecretor (Singh y Majumdar, 1999).

El aceite esencial aislado de la corteza de *Croton cajucara*, presentó actividad gastroprotectora en los modelos: de estrés, administración de HCl/etanol, y ligadura del píloro, dicho aceite presenta una muy baja toxicidad (Hiruma-Lima *et al.*, 2000).

IV. ESTUDIOS DE PLANTAS MEXICANAS USADAS COMO ANTIULCEROSAS

Dentro de la medicina tradicional mexicana se tiene el registro de cincuenta y seis plantas utilizadas en tratamiento de la úlcera gástrica pero sólo a cuatro de ellas se les ha realizado algún tipo de estudio farmacológico para demostrar dicha actividad biológica.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

Dentro de las plantas más estudiadas se encuentran; *Amphipterygium adstringens* (Cuachalalate) (Navarrete *et al.*, 1990) e *Hippocratea excelsa* HBK (Cancerina) (Navarrete, *et al.*, 2002). Del estudio de la corteza de cuachalalate se aislaron al β -sitosterol, al ácido 3 α -hidroximasticadienónico, y al ácido-*epi*-oleanólico, como los metabolitos responsables de la actividad antiulcerosa, todos estos compuestos presentaron actividad gastroprotectora en el modelo de úlcera inducida por etanol (Benítez, 1998). De la corteza de la raíz de cancerina, se aislaron los metabolitos β -sitosterol, β -D-glucósido de β -sitosterol y epicatequina y la mezcla de α - y β - amirina como responsables de la actividad gastroprotectora en el modelo de úlcera inducida por etanol (Navarrete *et al.*, 2002). Otras plantas con estudios sobre la actividad antiulcerosa son *Croton fragilis* y *Hedeoma drumondi* (Navarrete, *et al.* 1992).

V. ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS FITOSTEROLES β -SITOSTEROL ESTIGMASTEROL Y CAMPESTEROL

Los fitoesteroles y sus ésteres son componentes naturales presentes en la dieta humana, los cuales se encuentran como componentes menores (0.1-0.5%, w/w) en aceites vegetales comestibles (Sanders, et al., 2000). Las fuentes más abundantes de fitoesteroles son aceites no refinados de plantas, semillas, nueces y legumbres (Awad y Fink, 2000).

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

Se ha estimado que la ingestión de fitosteroles en la dieta de los habitantes del norte de Europa es de 200-300 mg/día, mientras que la ingestión de fitosteroles por personas vegetarianas y Japonesas es mayor, oscilando entre 300-450 mg/día (Sanders, et al., 2000).

Los fitosteroles tienen una estructura similar al colesterol, pero con algunas modificaciones, estas modificaciones incluyen la adición de un doble enlace y/o un grupo metilo o etilo. Los fitosteroles más comunes son el β -sitosterol, el campesterol y el estigmasterol. (Fig.1).

Estudios epidemiológicos y experimentales sugieren que existe una asociación entre bajos niveles de cáncer de próstata en personas asiáticas y que son vegetarianos quienes consumen dietas abundantes en fitosteroles, comparadas con la dieta de las personas de occidente (Awad y Fink, 2000). Por lo cual se sugiere que dietas altas en fitosteroles proporcionan protección contra muchos cánceres comunes tales como cáncer de colon, de seno y de próstata. Sin embargo aún no está totalmente establecido, el mecanismo de acción por el cual se efectúa dicha protección, se han sugerido efectos de los fitosteroles sobre la superficie de la membrana, sobre las señales de transducción que regulan el crecimiento de tumores y sobre la apoptosis (Awad y Fink, 2000).

Se ha determinado que los fitosteroles reducen el nivel de colesterol en el plasma al bloquear la absorción de éste en el estómago, y esta actividad puede reducir el riesgo de desarrollar aterosclerosis y enfermedades coronarias. Los fitosteroles esterificados con ácidos grasos a partir del aceite de girasol se han investigado para poder utilizarse como ingredientes en margarinas, por su capacidad de reducir los niveles de colesterol en

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

sangre, ya que margarinas enriquecidas con diferentes esteroides de aceites vegetales, o con ésteres de sitostanol, disminuyen los niveles de colesterol de las lipoproteínas de

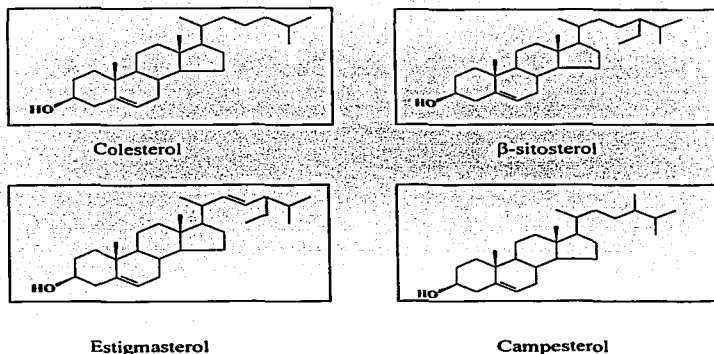


Figura 1. Estructura del colesterol y fitosteroides más comunes.

baja densidad (LDL), sin afectar los niveles de colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Ling y Jones, 1995; Jones y Ntanos, 1998., Sanders, et al., 2000).

Para el estigmasterol se reporta que posee actividad hipocolesteremiante, sin embargo en un estudio efectuado con pollos este no presentó dicha actividad, los autores que realizaron dicho estudio atribuyen su ineffectividad como agente hipocolesterolémico, a

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

la insaturación que presenta en el carbono 22, ya que esta es la única diferencia existente entre el estigmasterol y el β -sitosterol, compuesto del que se tiene amplio conocimiento de su actividad hipocolesterolémica (Chandler et al, 1979; Ling y Jones, 1995). Sin embargo en otro estudio efectuado en ratas a las cuales se les dio una dieta enriquecida con estigmasterol si presentó un efecto hipocolesterolémico, ya que incrementó la excreción fecal de esteroides neutros (colesterol y coprostanol), así mismo, también incrementó la excreción de ácidos biliares siendo los ácidos biliares secundarios más afectados que los ácidos biliares primarios (Andriamiarina, et al, 1989).

En la evaluación de la actividad antinociceptiva del estigmasterol en ratón, se observó una acción antinociceptiva contra la administración de ácido acético y formalina. Cuando se administra vía i.p. es tan potente como la aspirina. Tanto el estigmasterol como su acetato, inhiben la inflamación causada en la prueba de analgesia con formalina (Santos, et al., 1995; García, et al., 1999).

VI. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como se mencionó antes dentro de la medicina tradicional mexicana existen numerosas plantas empleadas en el tratamiento de la úlcera péptica, entre las cuales destacan *Amphipterygium adstringens* (Cuachalalate) e *Hippocratea excelsa* HBK (Cancerina), de las cuales ya se han aislado e identificado los metabolitos responsables de la actividad gastroprotectora (Navarrete *et al.*, 1998; Navarrete *et al.*, 2002).

Para el cuachalalate se encontró como metabolitos gastroprotectores al ácido 3-epioleanólico, al ácido 3 α -hidroximasticadienónico y al β -sitosterol, (Benítez, 1998) en tanto que para la cancerina, los metabolitos responsables de dicha acción fueron epicatequina, α -amirina, β -amirina, 3-O- β -glucósido de sitosterol, y β -sitosterol (Navarrete *et al.*, 2002). En trabajos anteriores y en otro realizado por investigadores Chinos (Ling y Jones, 1995), se encontró como metabolito activo antiulceroso al β -sitosterol. Para este metabolito y para algunos de sus derivados esterificados con varios ácidos se ha demostrado que en su efecto gastroprotector participan de manera parcial las prostaglandinas (Arrieta, 2001).

El β -sitosterol y el estigmasterol difieren estructuralmente sólo en el doble enlace en la posición 22 (Fig.1), y sin embargo comparten actividades comunes como agentes anticancerosos (Awad y Fink, 2000), hipocolesterolemiantes (Ling y Jones, 1995) y antinociceptivas (Santos *et al.*, 1995; García *et al.*, 1999). Por otro lado, se ha propuesto que para triterpenos y esteroleos es importante la presencia de un grupo hidroxilo en la

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

posición 3 (Navarrete et al., 2002) característica que comparten el β -sitosterol y el estigmasterol (Fig. 1).

Considerando lo anterior se planteó que dado que para el β -sitosterol se ha demostrado su actividad antiulcerosa, en particular gastroprotectora, y que el β -sitosterol y el estigmasterol comparten características estructurales, además de presentar actividades biológicas comunes, el estigmasterol pudiese también tener actividad antiulcerosa.

VII. HIPÓTESIS

Considerando que el β -sitosterol presenta actividad gastroprotectora, se planteó que de manera análoga, el estigmasterol, presentará dicha actividad, esto, debido a que ambos esteroides, presentan una estructura química muy similar, diferenciándose únicamente en una insaturación en el carbono 22 de la cadena lateral, presente en el estigmasterol, y a que comparten otras actividades biológicas.

VIII. OBJETIVO GENERAL

Realizar la evaluación de la actividad gastroprotectora de estigmasterol en el modelo de lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar y establecer la participación de las prostaglandinas, el óxido nítrico y los grupos sulfhídrico, en el proceso de gastroprotección de este fitosterol.

IX. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar la relación dosis-respuesta gastroprotectora de estigmasterol en rata Wistar.
- b) Establecer la participación de las prostaglandinas, el óxido nítrico y los grupos sulfhídrico en el efecto gastroprotector de estigmasterol.
- c) Determinar la participación de la isoenzima ciclooxigenasa 2 (COX-2), en la actividad gastroprotectora del estigmasterol.

X. METODOLOGIA

10.1. Fármacos

La carbenoxolona, el estigmasterol (95% de pureza), la indometacina, el L-NAME (98% de pureza, L-NAME) y la N-Etilmaleimida (98% de pureza, NEM) se adquirieron de Sigma Aldrich Corporation y el Celecoxib, se adquirió de Pfizer.

10.2. Animales

Para el presente estudio se utilizaron ratas Wistar machos con un peso corporal de 180 a 220 g, adquiridos de Harlan México S.A. de C.V. Para los experimentos, los animales se colocaron en jaulas individuales, con piso de malla, de forma tal que no tuvieran contacto con aserrín ni de que existiera coprofagia; asimismo fueron privados de alimento 24 horas antes de realizar los experimentos, dejándolos con libre acceso al agua (Navarrete et al, 1998). Para cada lote se utilizaron al menos 6 animales. En todos los experimentos se utilizó como fármaco de referencia a la carbenoxolona.

10.3. Estudio de gastroprotección contra las úlceras inducidas por etanol

Las lesiones gástricas fueron inducidas de acuerdo al método descrito por Robert (1979), por la administración oral de 1 mL de etanol absoluto. El estigmasterol se administró por vía oral (suspendido 5 % Tween 80) a las dosis de 10, 30, 100 y 300 mg/kg, en tanto que la carbenoxolona se administró vía oral (solución) a las dosis de 1, 10, 30 y 100 mg/kg a los diferentes grupos de animales, el grupo control recibió únicamente el vehículo, 30 minutos después de haber administrado los compuestos, se administró 1

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

mL de etanol absoluto, y 120 minutos después de la administración del etanol, los animales se sacrificaron por una sobredosis de éter etílico. De forma inmediata los estómagos se extrajeron y se llenaron con 10 mL de formol al 2 %, una vez llenos se colocaron en un recipiente que contenía formol al 2 % por espacio de cinco minutos, posteriormente los estómagos se abrieron por la curvatura mayor (Diagrama 1) y se colocaron de forma extendida bajo un microscopio estereoscópico (X10) provisto con un micrómetro ocular. Se calculó el área de las lesiones (en mm²) en el cuerpo del estómago, para así calcular el índice de úlcera y con éste, el porcentaje de gastroprotección (% de gastroprotección) de acuerdo con la siguiente relación:

$$\% \text{ de gastroprotección} = \frac{\text{UIC} - \text{UIT}}{\text{UIC}} \times 100$$

Donde UIC es el índice de úlcera control (en mm²), UIT es el índice de úlcera en presencia del compuesto de prueba (en mm²) (Navarrete *et al*, 1998).

10.4. Lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pretratadas con indometacina o celecoxib

Para investigar la participación de las prostaglandinas endógenas en la gastroprotección del estigmasterol y carbenoxolona. La indometacina (10 mg/kg, disuelta en una solución de cloruro de sodio al 0.9 % conteniendo 5 % de bicarbonato de sodio, s .c.) y el celecoxib (15 mg/kg, suspendido en Tween 80 al 0.5%, p. o.), se administraron 75 minutos antes de la administración oral de estigmasterol o carbenoxolona a las dosis de 300 y 30 mg/kg respectivamente, dichas dosis se definieron de la curva dosis-respuesta

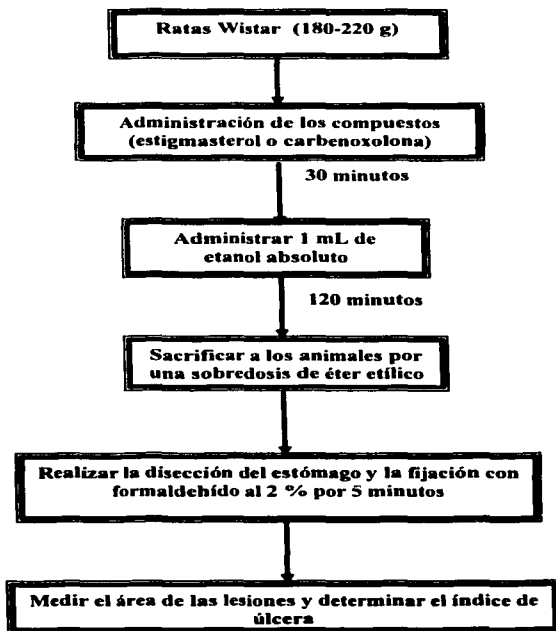


Diagrama 1. Evaluación del efecto gastroprotector de estigmasterol y carbenoxolona.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

gastroprotectora (Wan y Gottfried, 1985; Wallace, *et al.*, 2000), 30 minutos más tarde se administró 1 mL de etanol absoluto (p. o.) y 120 minutos después se sacrificaron los animales (Diagrama 2 y 3) y se siguió el procedimiento para calcular el índice de úlcera. A un grupo control se le administraron únicamente los vehículos y etanol, a un segundo grupo control se le administró indometacina o celecoxib más etanol.

10.5. Lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pretratadas con L-NAME

Para elucidar la participación del óxido nítrico endógeno en la gastroprotección de los compuestos de prueba el L-NAME (70 mg/kg, suspendido en Tween 80 al 0.5%) se administró intraperitonealmente 30 minutos antes de la administración de los compuestos de prueba (p. o.) a las dosis antes mencionadas (Matsuda, *et al.*, 1999). 30 minutos después de administrar los compuestos de prueba se administró el etanol y se continuó con el procedimiento para calcular el índice de úlcera (Diagrama 4).

Un grupo control fue tratado con los vehículos y etanol. A un segundo grupo control se trató con L-NAME más etanol.

10.6. Lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pretratadas con NEM

Para investigar la participación de los compuestos endógenos con grupos sulfhidrilo en la gastroprotección de los compuestos de prueba se administró el NEM (10 mg/kg disuelto en solución salina al 0.9 %, s. c.). 30 minutos antes de administrar los compuestos de prueba (p. o.) y 30 minutos después de haber administrado dichos

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

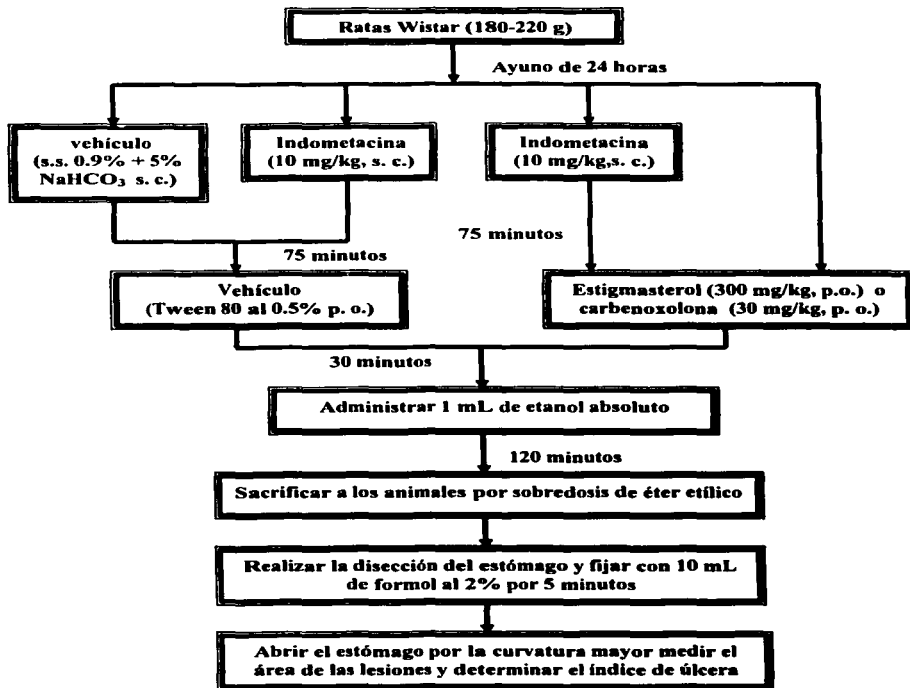


Diagrama 2. Evaluación del efecto de la indometacina sobre la actividad gastroprotectora de estigmasterol o carbenoxolona.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

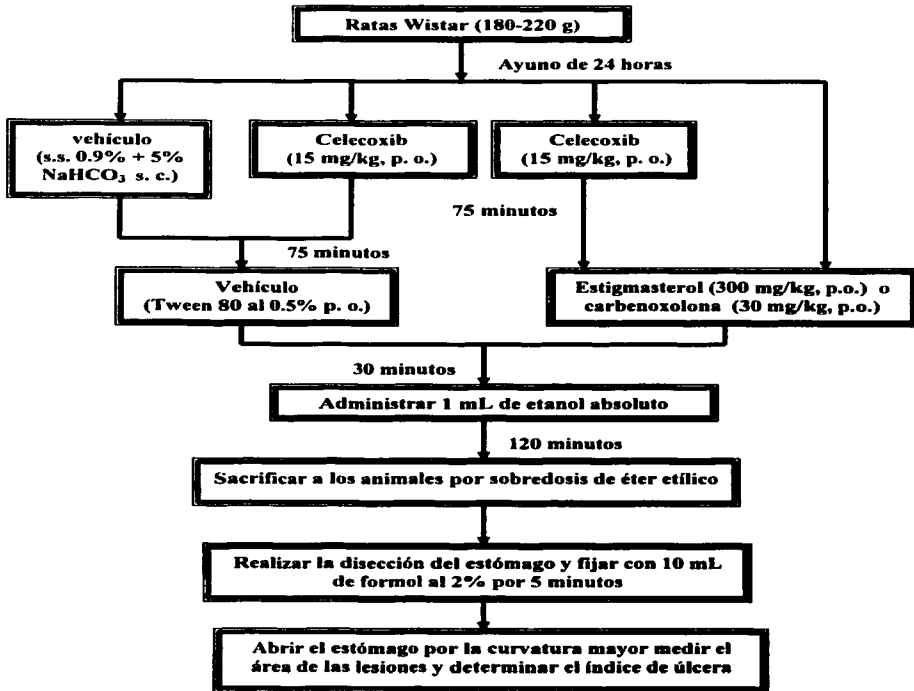


Diagrama 3. Evaluación del efecto de celecoxib sobre la actividad gastroprotectora de estigmasterol o carbenoxolona.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

compuestos se administró el etanol (Matsuda, *et al.*, 1999) y se continuó con el procedimiento para calcular el índice de úlcera (Diagrama 5).

A un grupo control se trato con los vehículos y etanol. Un segundo grupo control fue tratado con NEM más etanol.

Análisis estadístico. Las pruebas estadísticas que se utilizaron fue la prueba de ANADEVA seguido de la prueba de Duncan (Montgomery, 1991).

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

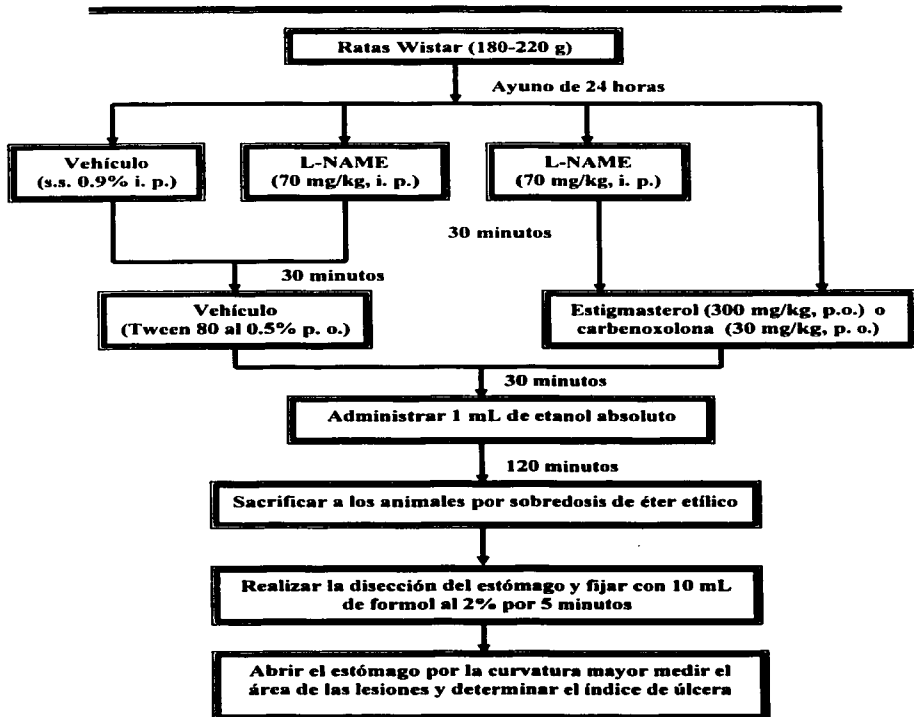


Diagrama 4. Evaluación del efecto de L-NAME sobre la actividad gastroprotectora de estigmasterol o carbenoxolona.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

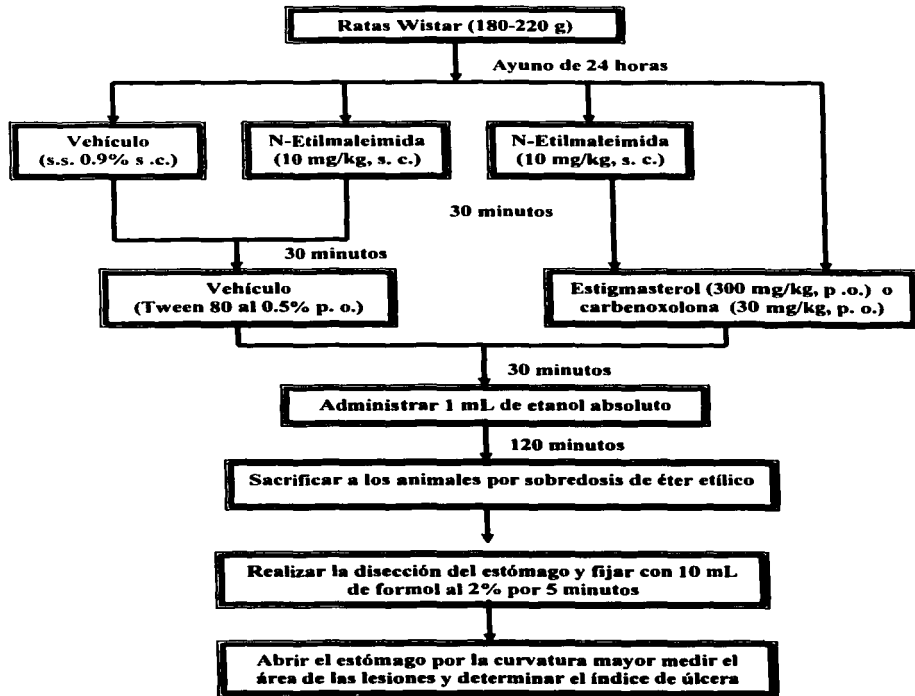


Diagrama 5. Evaluación del efecto de N-etilmaleimida sobre la actividad gastroprotectora de estigmasterol o carbenoxolona.

XI. RESULTADOS

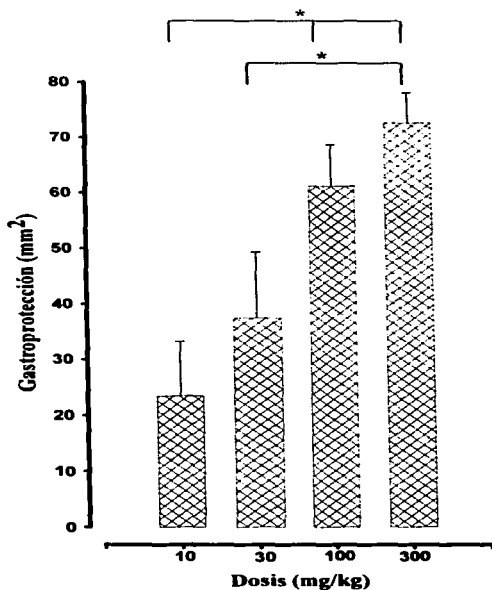
En las gráficas 1 y 2 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación de la actividad gastroprotectora de estigmasterol y carbenoxolona, respectivamente. Como se puede observar en la gráfica 1, se presenta un efecto dependiente de la dosis. En dicha gráfica también se puede observar que el efecto máximo se alcanzó con la dosis de 300 mg/kg. Por otro lado, en la gráfica 2, no se observa un efecto dependiente de la dosis y el efecto máximo se alcanza con la dosis de 100 mg/kg. La gráfica 3 corresponde a la gráfica del cálculo de la potencia relativa entre el estigmasterol y la carbenoxolona por el método de dos puntos (Tallarida, 1981). En dicha gráfica se puede observar que la carbenoxolona fue 2 veces más potente que el estigmasterol.

Una vez que se observó actividad gastroprotectora del estigmasterol, se procedió a determinar si las prostaglandinas, el óxido nítrico y los grupos sulfhidrilo están involucrados en su acción gastroprotectora.

Los resultados del involucramiento de las prostaglandinas, tanto para el estigmasterol como para la carbenoxolona, se muestran en las gráficas 4 y 5 respectivamente, en dichas gráficas se observa que la administración previa de indometacina, inhibe en su totalidad el efecto gastroprotector del estigmasterol (Gráfica 4), y para la carbenoxolona la inhibición del efecto es parcial, (Gráfica 5).

En la determinación de la participación de la COX-2 en el efecto gastroprotector de estigmasterol y carbenoxolona, al administrar previamente celecoxib, se observa que no

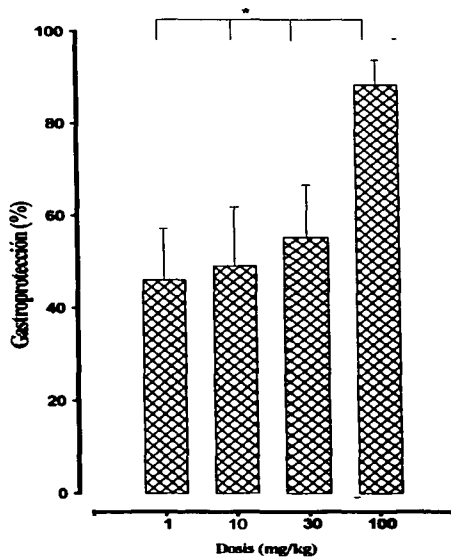
Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Gráfica 1. Efecto gastroprotector del estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol. Cada barra representa la media \pm EEM de al menos diez determinaciones. * $p < 0.05$ indica diferencia significativa respecto al grupo indicado por la línea.

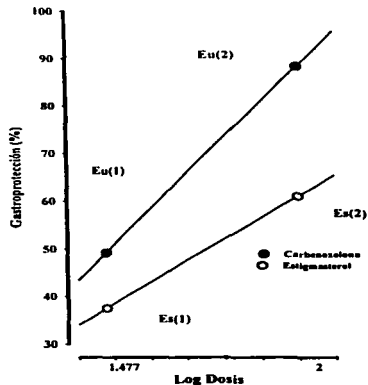
Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Gráfica 2. Efecto gastroprotector de la carbenoxolona sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol. Cada barra representa la media \pm EEM de al menos diez determinaciones. * $p < 0.05$ indica diferencia significativa respecto al grupo indicado por la línea.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

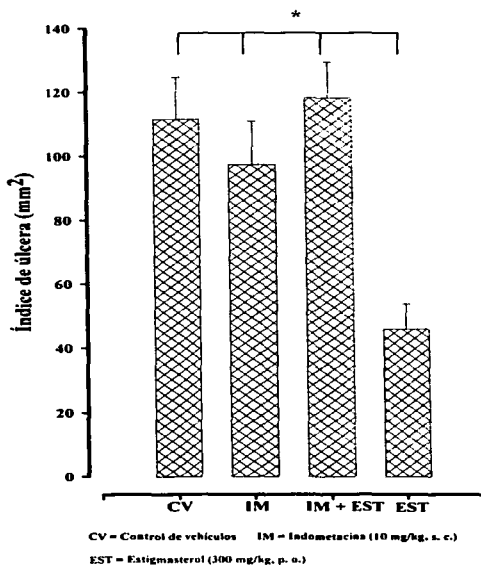


Gráfica 3. Cálculo de la potencia relativa del estigmasterol y la carbenoxolona, utilizando el método de dos puntos a las dosis de 30 y 100 mg/kg. Cada punto representa la media de al menos 10 repeticiones. (Tallarida, 1981).

$$\text{Potencia relativa} = \frac{\text{Eu}(2) - \text{Es}(2) + \text{Eu}(1) - \text{Es}(1)}{\text{Es}(2) - \text{Es}(1) + \text{Eu}(2) - \text{Eu}(1)} \times \log \frac{\text{D2}}{\text{D1}}$$

$$\text{Potencia relativa} = \frac{88.37 - 61.2 + 49.16 - 37.49}{61.2 - 37.49 + 88.37 - 49.16} \times \log 100/30 = 2.10$$

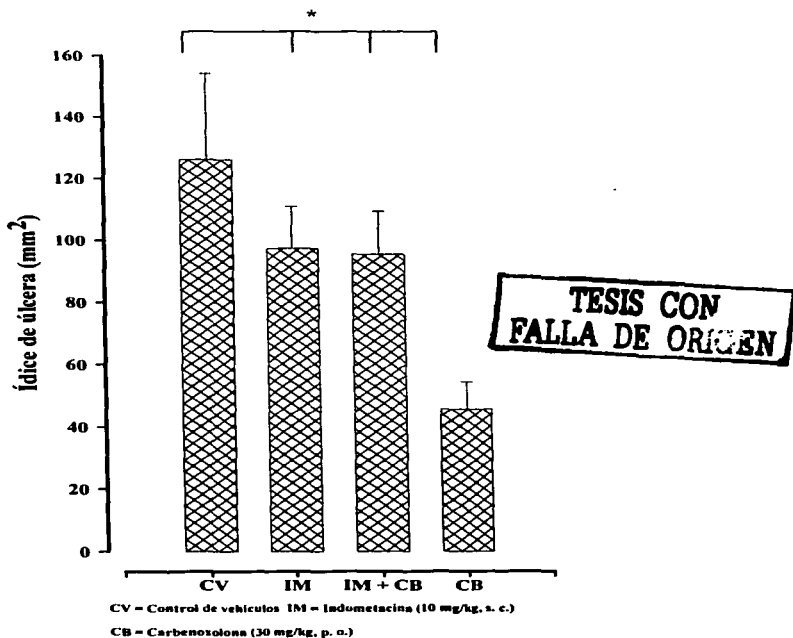
Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Gráfica 4. Efecto gastroprotector de estigmasterol en presencia o en ausencia de indometacina sobre las lesiones inducidas por etanol. Cada barra representa la media \pm EEM de al menos diez determinaciones. * $p < 0.05$ indica diferencia significativa respecto al grupo indicado por la línea.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar



Gráfica 5. Efecto gastroprotector de la carbenoxolona en presencia o en ausencia de indometacina sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol. Cada barra representa la media \pm EEM de al menos diez determinaciones. * $p < 0.05$ indica diferencia significativa respecto al grupo indicado por la línea.

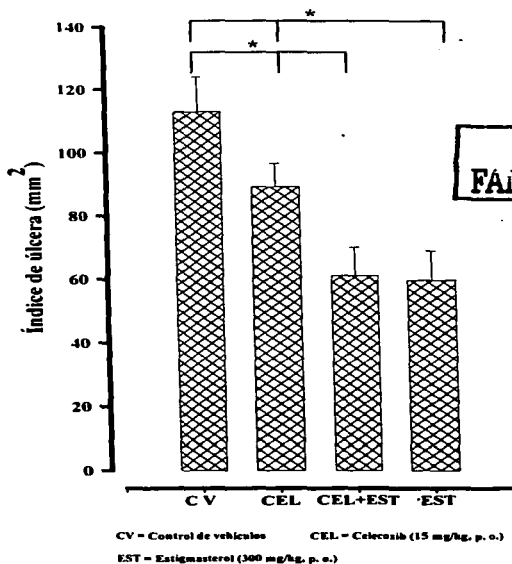
Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

existe una inhibición del efecto gastroprotector para ambos compuestos, los resultados de dichas evaluaciones se muestran en las gráficas 6 y 7 respectivamente.

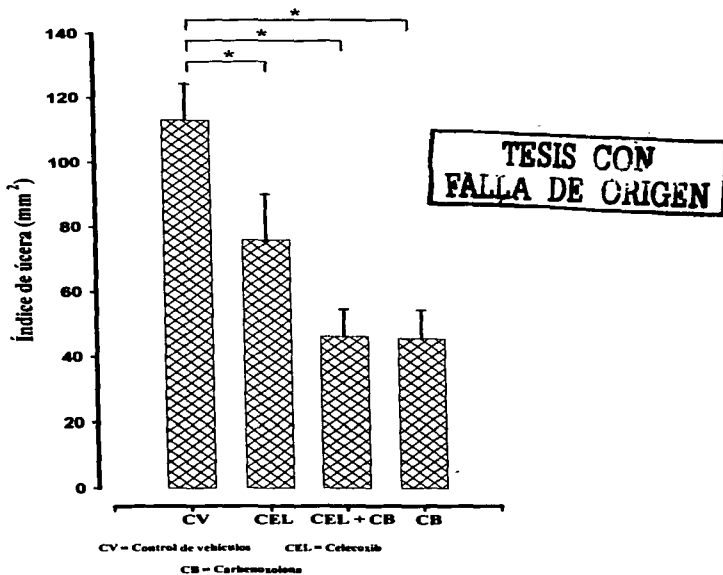
Es importante señalar que los lotes tratados con celecoxib presentaron gastroprotección, hecho que fue constante en este trabajo y en otros experimentos en nuestro laboratorio. Con respecto a la evaluación de la posible participación del óxido nítrico, en la acción gastroprotectora de estigmasterol y carbenoxolona, al administrar previamente L-NAME, se observa una inhibición parcial en el efecto del estigmasterol, como se muestra en la gráfica 8, en dicha gráfica también se puede observar que la administración de L-NAME incrementa las lesiones gástricas inducidas con etanol, por el contrario, para la carbenoxolona, el efecto gastroprotector no se modifica, como se muestra en la gráfica 9.

En los resultados de la evaluación de estigmasterol y carbenoxolona, al administrar previamente N-Etilmaleimida, se observó una inhibición parcial del efecto gastroprotector para ambos compuestos, como se aprecia en las gráficas 10 y 11 respectivamente, en dichas gráficas también se observa que la administración previa de N-Etilmaleimida incrementa las lesiones gástricas inducidas por etanol.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

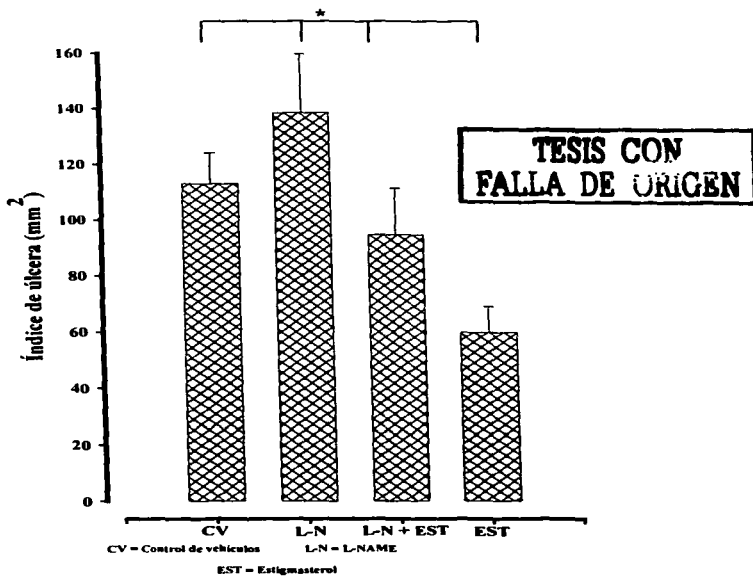


Gráfica 6. Efecto gastroprotector del estigmasterol en presencia o ausencia celecoxib sobre las lesiones gástricas inducidas con etanol. Cada barra representa la media \pm EEM de al menos diez determinaciones. * $p < 0.05$ indica diferencia significativa respecto al grupo indicado por la línea.



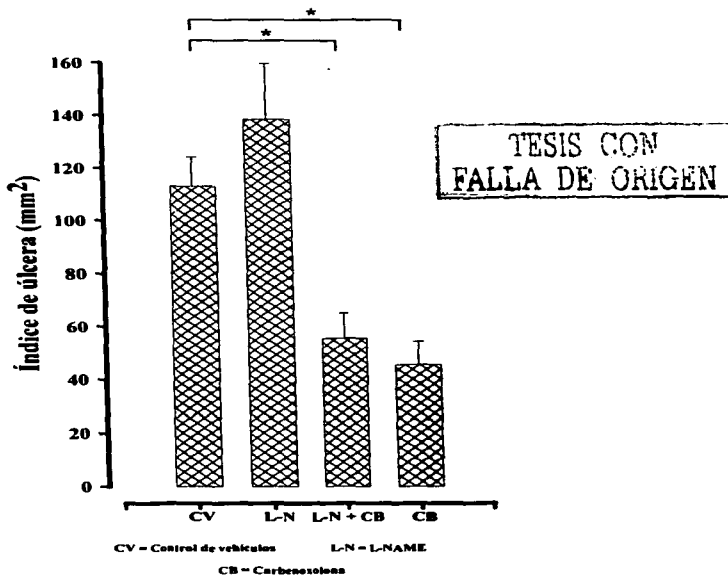
Gráfica 7. Efecto gastroprotector de la carbenoxolona (30 mg/kg, p.o.) en presencia o en ausencia de celecoxib (15 mg/kg, p.o.) sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol. Cada barra representa la media \pm EEM de al menos diez determinaciones. * $p < 0.05$ indica diferencia significativa respecto al grupo indicado por la línea.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar



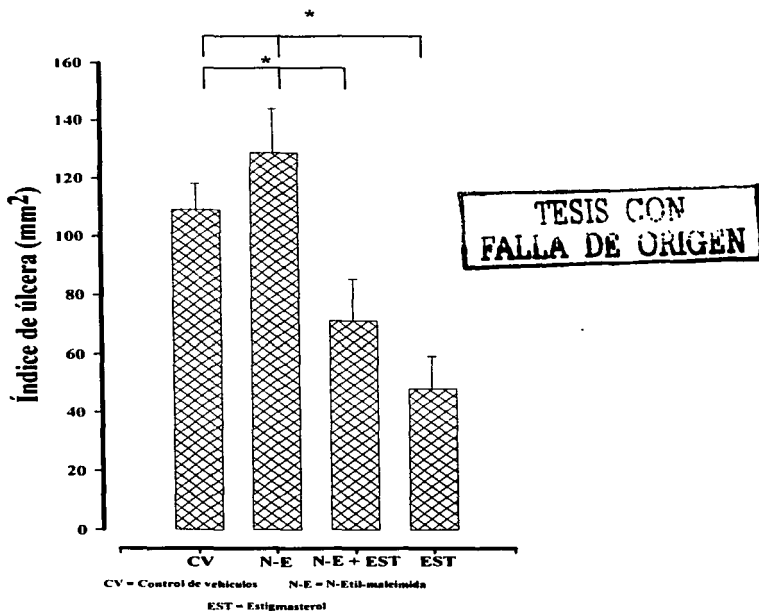
Gráfica 8. Efecto gastroprotector del estigmasterol (300 mg/kg, p.o) en presencia o ausencia L-NAME (70 mg/kg, p.i) sobre las lesiones gástricas inducidas con etanol. Cada barra representa la media \pm EEM de al menos diez determinaciones. * $p < 0.05$ indica diferencia significativa respecto al grupo indicado por la línea.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

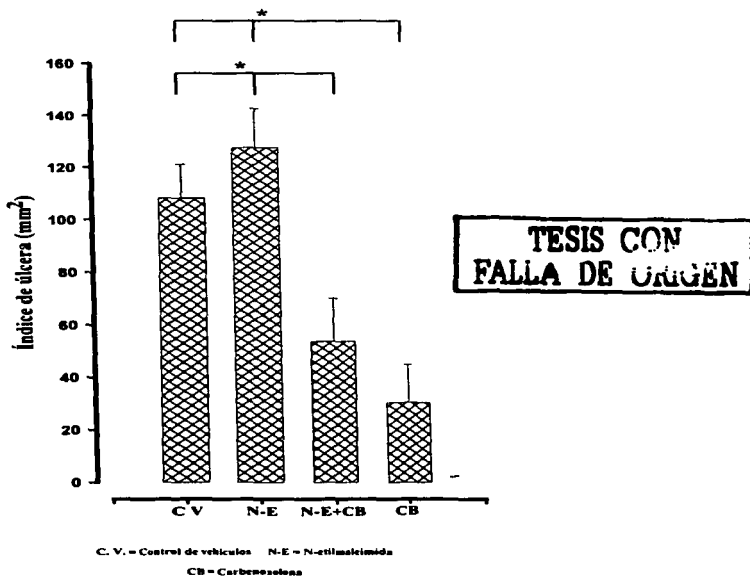


Gráfica 9. Efecto gastroprotector de la carbenoxolona (30 mg/kg p.o.) en presencia o en ausencia de L-NAME (70 mg/kg, p.i.) sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol. Cada barra representa la media \pm EEM de al menos diez determinaciones. * $p < 0.05$ indica diferencia significativa respecto al grupo indicado por la línea.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar



Gráfica 10. Efecto gastroprotector de estigmasterol (300 mg/kg p.o.) en presencia o en ausencia de N-Etilmaleimida (10 mg/kg, s.c.) sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol. Cada barra representa la media \pm EEM de al menos diez determinaciones. * $p < 0.05$ indica diferencia significativa respecto al grupo indicado por la línea.



Gráfica 11. Efecto gastroprotector de carbenoxolona (30 mg/kg p.o.) en presencia o en ausencia de N-Etilmaleimida (10 mg/kg, s.c.) sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol. Cada barra representa la media \pm EEM de al menos diez determinaciones. * $p < 0.05$ indica diferencia significativa respecto al grupo indicado por la línea.

XII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El estigmasterol cuenta en su estructura con un grupo hidroxilo libre en el C-3, y se diferencia del β -sitosterol, únicamente por una instauración en el carbono 22 de la cadena lateral, lo cuál sugiere que el grupo hidroxilo en el carbono 3, es importante para conferir actividad gastroprotectora a los esteroides, lo cuál confirma lo planteado por Arrieta, (2001) y Navarrete *et al.*, (2002) referente a que la presencia de un grupo hidroxilo libre o derivado en la posición tres del esqueleto de esteroides o triterpenos, parece ser una característica estructural necesaria para que tales compuestos presenten dicha actividad farmacológica, puesto que productos naturales que han sido identificados como antiulcerosos tales como el ácido glicirrízico, el ácido oleanólico, el ácido ursólico, la carbenoxolona, el acetato de lupeol, el sericósidos y varias saponinas triterpenoides presentan en su estructura un grupo hidroxilo libre o derivado en el carbono C-3 (Lewis y Hanson, 1991).

El estigmasterol fue 2.1 veces menos potente como gastroprotector que la carbenoxolona utilizado como fármaco de referencia (Gráfica 3). Sin embargo esta diferencia en potencia es menor a una unidad logarítmica por lo que se puede decir que la potencia de ambos es cercana.

Por otro lado se ha demostrado que en el mecanismo de acción de varios productos naturales antiulcerosos están involucrados diversos factores gastroprotectores, como son, las prostaglandinas, el óxido nítrico, las neuronas sensibles a capsaicina, y los grupos sulfhidrilo (Matsuda *et al.*, 1999). Por lo que en el presente estudio, una vez que se

observó actividad gastroprotectora del estigmasterol, el siguiente paso fue investigar la posible participación de tres de los cuatro factores gastroprotectores en el mecanismo de acción del estigmasterol.

12.1 Determinación de la participación de las prostaglandinas en el efecto gastroprotector de estigmasterol

Las prostaglandinas producidas en el estómago desempeñan un papel muy importante en el mantenimiento de la integridad de la mucosa gástrica. Prostaglandinas como las E_2 e I_2 , protegen a la mucosa gástrica después de que ha sido dañada, a través de un incremento en el flujo sanguíneo normal, por mantenimiento de la hidrofobicidad de la superficie del epitelio; estimulando la secreción de moco epitelial y bicarbonato, además de promover la rápida proliferación y diferenciación celular (Giercksky, *et al.*, 2000).

Se ha postulado la participación de las prostaglandinas en el mecanismo de acción de productos naturales tales como ácido oleanólico y catequina (Lewis y Hanson, 1991) mientras que para otros productos, se tienen datos experimentales que indican claramente su participación como en el caso de quercetina, naringina y similarina (Borrelli e Izzo, 2000).

Con respecto a la carbenoxolona, se ha propuesto que su efecto gastroprotector se debe en parte a que promueve la síntesis de prostaglandinas y disminuye su metabolismo (Wan y Gottfried, 1985). Se sabe que el efecto gastroprotector de la carbenoxolona es inhibido parcialmente por un pretratamiento de indometacina cuando se administra a la dosis de 10 mg/kg por vía subcutánea. En este trabajo se reprodujeron los resultados

publicados por Wan y Gottfried (1985) y Dembinska-Kiec, *et al.*, (1991), como se observa en la gráfica 5. El pretratamiento de los animales con 10 mg/kg de indometacina provocaron la inhibición total de la actividad gastroprotectora de estigmasterol, los resultados de dicha evaluación se muestran en la gráfica 4, lo cuál sugiere que en su mecanismo de acción están implicadas de manera importante las prostaglandinas.

12.2. Determinación de la participación de la COX-2 en el efecto gastroprotector de estigmasterol

Las prostaglandinas que son producidas en el estómago desempeñan un papel fundamental en el mantenimiento de la integridad de la mucosa gástrica, sin embargo no está del todo definido cuál de las dos isoformas de COX es la principal responsable de la síntesis de prostaglandinas en el tracto gastrointestinal (Cryer y Dubois, 1998). Algunos autores han propuesto que exclusivamente las prostaglandinas derivadas de la COX-1, están involucradas en los mecanismos de defensa de la mucosa gástrica, no obstante se ha observado que los inhibidores de la COX-2 retardan la cicatrización de úlceras producidas experimentalmente en animales y disminuyen la proliferación de células epiteliales, tales observaciones indican que en contraste con el concepto inicial, las prostaglandinas sintetizadas por COX-2, también participan en la reparación de la mucosa gástrica, por lo que señalan que las PGs que intervienen en la protección de la mucosa gástrica derivan tanto de la COX-1 como de la COX-2 (Peskar y Maricic, 1998, 1999 y Peskar *et al.*, 2001).

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

Con respecto a esto, en el efecto gastroprotector de estigmasterol (gráfica 6) y carbenoxolona (gráfica 7) al ser pretratados con celecoxib, inhibidor selectivo de la COX-2, no modificó su efecto gastroprotector, lo que indica que no es importante la inhibición de la COX-2, en su mecanismo de acción gastroprotector, estos resultados apoyan lo descrito por Giercksky, *et al.*, (2000) y Davies, *et al.*, (2000), quienes sugieren que la COX-1 es la isoenzima que regula la citoprotección gástrica.

12.3. Determinación de la participación del óxido nítrico en el efecto gastroprotector de estigmasterol

El óxido nítrico es una sustancia endógena que incrementa la citoprotección de la mucosa gástrica, a través del incremento del flujo sanguíneo y la inhibición de la liberación de metabolitos oxigenados y proteasas a partir de leucocitos en la microcirculación gástrica. El óxido nítrico también modula la secreción de algunos factores de crecimiento celular, principalmente factores de crecimiento epidérmico, asimismo regula la producción de prostaglandinas, interactúa con prostanoídes y neuropéptidos sensoriales, regulando la integridad de la mucosa gástrica (Matsuda *et al.*, 1999., Correa *et al.*, 2000). La administración previa de L-NAME, un inhibidor de la sintasa de óxido nítrico, inhibió de manera parcial la actividad gastroprotectora de estigmasterol, aunque no existe una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo tratado previamente con L-NAME y el grupo tratado exclusivamente con estigmasterol, lo cual sugiere que en el mecanismo de acción del estigmasterol, está implicado de manera parcial el óxido nítrico (gráfica 8). Para la carbenoxolona, la

administración previa de L-NAME, no inhibió su acción gastroprotectora (gráfica 9) lo que contradice lo descrito por Dembinska-Kiec, *et al.*, (1991), respecto a que en la actividad gastroprotectora de la carbenoxolona esta parcialmente implicado el óxido nítrico.

12.4. Determinación de la participación de los grupos sulfhidrilos en el efecto gastroprotector de estigmasterol

Los grupos sulfhidrilos son requeridos para la síntesis de prostanoideos y para la activación de los receptores de las prostaglandina, siendo responsables de la defensa de la mucosa ya que influyen en la permeabilidad de la membrana, adhesión de las células y liberación de radicales libres (Szabo *et al*; 1981, Konturek *et al.* 1987, Shorrock y Ress, 1988). La administración previa del bloqueador de grupos sulfhidrido N-Etilmaleimida revirtió parcialmente el efecto gastroprotector del estigmasterol aunque no hubo diferencia estadística significativa lo que indica que los grupos sulfhidrido están involucrados en parte en su efecto gastroprotector (gráfica 10). Con respecto a la carbenoxolona también están involucrados de una manera parcial debido a que cuando se administró previamente el N-Etilmaleimida, el efecto gastroprotector se revirtió parcialmente (gráfica 11).

Estos resultados pueden dar elementos que apoyan que las personas que tienen como base principal de su dieta a los vegetales, en los cuales se encuentran los fitosteroles pudiesen explicar la menor incidencia de úlcera en estas personas sin embargo se requieren estudios adicionales para verificar lo anterior.

XIII. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se desprenden del presente trabajo son las siguientes:

1. Se demostró que el estigmasterol, presenta actividad gastroprotectora contra las lesiones gástricas inducidas con etanol en ratas Wistar. siendo 2.1 veces menos potente que la carbenoxolona utilizada como fármaco de referencia.
2. En el mecanismo de acción gastroprotector del estigmasterol están implicadas de manera importante las prostaglandinas, en tanto que el óxido nítrico y los grupos sulfhidrilos están involucrados en menor medida, del mismo modo que para la carbenoxolona en donde las prostaglandinas son las más importantes en su mecanismo de acción, pero no los grupos sulfhidrilo, y el óxido nítrico.
3. El pretratamiento con celecoxib, no inhibe la acción gastroprotectora de ambos compuestos, lo que indica que al parecer las prostaglandinas que se utilizan a través de la COX-2 no están implicadas en el mecanismo de acción gastroprotector de estos compuestos.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

XIV. PERSPECTIVAS

- 1.- Cuantificar los niveles de prostaglandinas, tromboxano y leucotrienos, para obtener más información de su mecanismo de acción.
- 2.- Determinar si las neuronas sensibles a capsaicina están implicadas en su mecanismo de acción gastroprotector.
- 3.- Realizar derivados de tipo éster del estigmasterol, para verificar si se incrementa su actividad gastroprotectora tal como se logró con la carbenoxolona.

XV. BIBLIOGRAFÍA

- Allen, A.; Flemstrom, G.; Garner, A. y Kivilaakso, E. (1992). Gastroduodenal mucosal protection. *Am. J. Physiol.* 73: 823-857.
- Andriamiarina, R., Laraki, L., Pelletier, X., y Debry, G. (1989). Effects of Stigmasterol-Supplemented Diets on Fecal Neutral Sterols and Bile Acid Excretion in Rats. *Ann. Nutr. Metab.* 33:297-303.
- Arrieta, J. (2001). Síntesis y valoración de la actividad gastroprotectora de ésteres de β -sitosterol. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias. Escuela superior de Medicina. (IPN).
- Astra-Zeneca. (2002). Monografía-Esomeprazol: Un avance en el tratamiento con inhibidores de la bomba de protones. *Atención médica.* 15:56-63.
- Awad, Atif y Fink, Carol. (2000). Phytosterols as Anticancer Dietary Components: Evidence and Mechanism of Action. *J.Nutr.* 130:2127-2130.
- Barbosa, P. y Ramos C. (1992). Studies on the antiulcerogenic activity of the essential oil of *Hyptis mutabilis* Briq. In rats. *Phytother. Res.* 6:114-115.
- Bays, D. Y Finch, H. (1990). Inhibitors of gastric acid secretion. *Natural Products Reports.* 409-445.
- Benítez, J. (1998). Evaluación farmacológica del efecto gastroprotector de los triterpenoides de la corteza de cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*) en rata Wistar. Tesis profesional Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza (UNAM). 83-94.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

- Bertaccini, G. y Coruzzi, G. (1985). Pharmacology of the treatment of peptic ulcer disease. *Dig. Dis. Sci.* 30 (suppl. 11): 435.
- Bettarello, A. (1985). Antiulcer the therapy past to present. *Dig. Dis. Sci.* 30 (suppl. 11):365-425.
- Blaser, M. y Parsonnet, J. (1994). Parasitims by the "slow" bacterium *Helicobacter pylori* leads to altered gastric homeostasis and neoplasia. *J. Clin. Invest.* 94:4-8.
- Bokus, M. y Henry, L. (1985). Gastroenterology. Vol. 1. 3 ed. Ed. Saunders Company, New York. 27-35.
- Borrelli, F. y Izzo, A. (2000). The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytother. Res.* 14: 581-591.
- Bruntom, L. (1996). Agents control of gastric acidity and treatment of peptic ulcers. J. Hardman, P. Molinoff, R. Ruddon y A. Goodman (eds). Goodman and Gilman The pharmacological basis of therapeutics. 9th ed. McGraw-Hill. USA. 901-917.
- Calatayud, S., borrachina, D., y Espulgues, J. (2001). Nitric oxide: Relation to Integrity, Injury, and Healing of the Gastric Mucosa. *Microscopy Research and Technique.* 53:325-335.
- Chandler, R., Hooper, S.N. e Ismael, H.A. (1979) Antihypercholesterolemic Studies with Sterols: β -Sitosterol and Stigmasterol. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 68(2) 245-247.
- Cryer, B., y Dubois, A. (1998). The Advent of Highly Selective Inhibitors of Cyclooxygenase-A Review. *Prostaglandins & other Lipid Mediators.* 56:341-361.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

- Davies, N., McLachlan, A., Day, R., y Williams K. (2000). Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Celecoxib. A Selective Cyclo-Oxygenase-2-Inhibitor. *Drug Disposition*. 38:225-242.
- De Vicentis, A., Bartosek, I. y Vargiu, G. (1991). Alginato In Drugs in gastroenterology, ed. by P. C. Braga, P., Guslandi, M. y Tittobello, A. pp 256-260 Raven Press, New York.
- Dembinska-Kiec, A., Pallapies, D., Simmet, T., Peskar, B.M. y Peskar, B.A.(1991) Effect of carbenoxolone on the biological activity of nitric oxide: relation to gastroprotection. *Br. J.Pharmacol.* 104:811-816.
- Flórez, J. y Espulgues, V. (1999). Farmacología de la secreción ácida gástrica y de la ulceración mucosa digestiva en J. Flórez, J. Armijo y Mediavilla A. Farmacología Humana. ed 3ª. Ed. Masson S.A. 756-784.
- Galvin, G. y Szabo, S. (1992). Experimental gastric injury: laboratory models reveal mechanism of pathogenesis and new therapeutic strategies. *FASEB J.* 6: 825-31.
- García,M.D., Sáenz, M.T., Gómez, M.A. y Fernández, M.A. (1999). Topical Antiinflammatory Activity of Phytosterols Isolated from *Eryngium foetidum* on Chronic and Acute Inflammation Models. *Phytotherapy Research.* 13: 78-80.
- Gierccksky, K., Haglund, U., y Rask-Madsen, J. (2000). Selective Inhibitors of COX-2- Are They Safe for the Stomach? *Scand. J. Gastroenterol.* 11:1121-1124.
- Gorbach, S. (1990). Bismuto therapy in gastrointestinal diseases. *Gastroenterol.* 99: 863-875.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

- Gupta, M., Nath, R., Gupta, G. y Bhargava, K. (1981). Antiulcer activity of some plant triterpenoids. *Ind. J. Res of medical research*. 73: 649-652.
- Guth, P. (1973). Experimental production of peptic ulcer. *Gastroenterol*. 64: 1187-88.
- Hiruma-Lima, C.A., Gracioso, J.S., Rodriguez, J.A. , Haun, m., Nunes, D.S., y Souza, B.A.R.M. (2000). Gastroprotective effect of essential oil from *Croton cajucara Benth.* (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 69:229-234.
- Holzer, P., y Sametz, W. (1986). Gastric mucosal Protection Against Ulcerogenic Factors in the Rat Mediated by Capsaicin-Sensitive Afferent Neurons. *Gastroenterology*. 91: 975-981.
- Hoogerwef, W.A. y Pasricha, P.J. (2001). Agents used for control of gastric acidity and treatment of peptic ulcers and gastroesophageal reflux disease. In . J.G. Hardman, L.L. Limbird y A.G. Gilman (eds). Goodman and Gilman. The pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. McGraw-Hill. USA. 1005-1020.
- Jerzey, G. (1970). Progresos en gastroenterología. Vol. I. Ed. Científico Médica. Barcelona, España.
- Jones, P., y Ntanos, F. (1998). Comparable Efficacy of Hydrogenated Versus Nonhydrogenated Plant Sterol Ester son Circulating Colesterol Levels in Humans. *Brief Critical Reviews*. 56:245-252.
- Konturek, S., Brzozowski, T., Piasttucki, I., Radecki, T., Dupuy, D. y Szabo, S. (1987) Gastric mucosal protection by agents altering gastric mucosal sulphhydryls. *Digestion*. 37:65-71.
- Konturek, S. (1988). Role of epidermal growth factor in gastroprotection and ulcer healing. *Scand. J. Gastroenterol*. 23:129-133.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

- Konturek, S. (1990). Mechanism of gastroprotection growth factor in gastrorprotection and ulcer healing. *Scand. J. Gastroenterol.* 23:129-133
- Konturek, S., Brozozowski, T., Drozdowicz, D. y Nauret. Ch. (1990). Role of intragastric pH in cytoprotection by antacids in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 181: 187-195.
- Lam. S. (1984). Pathogenesis and pathophysiology of duodenal ulcer. *Clin. Gastroenterol.* 13:24-49.
- Lewis D., y Hanson, P. (1991). Anti-ulcer drugs of plant origen. *Prog. Med. Chem.* 28: 201.
- Ligmusky, M., Kramski, F. y Rochmilewitz, D. (1984). Sucralfate stimulation of gastric PGE synthesis: possible mechanism to explain its effective cytoprotective mechanism. *Gastroenterol.* 87:1164.
- Ling, W.H. y Jones, P.J.H. (1995). Dietary phytosterols: A review of metabolism, benefits and side effects. *Life Sciences.* 57: 195-206.
- Maciel, M.A., Pinto, A., et al. (2000) Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology: a successful combination in the study of *Croton cajucara*. *Journal of Ethnopharmacology* 70: 41-55.
- Makovec, F., Revel, L., Letari, O., Mennuni, L. y Impicciatore, M. (1999). Characterization of antisecretory and antiulcer activity of CR 2945, a new potent and selective gastrin / CCK_B receptor antagonist. *Eur. J. Pharmacol.* 369: 81-90

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

- Matsuda, h., Li, Y., y Yoshikawa, M.(1999). Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulfhydryls, and prostaglandins in gastroprotection by momordin Ic. And oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol induced gastric mucosal lesions in rats. *Life Sciences*. 65:27-32.
- Montgomery, D. (1991) . Más sobre experimentos unifactoriales en Diseño y Análisis de Experimentos. Grupo Editorial Iberoamericana. S.A. de C.V. 85-118.
- Nakagawara, S., Katoh, K., Kusumi, T., Komura, H., Nomoto, K., Cono, H., Huneck, S., Takeda, R. (1992).Two azulenes produced by the liverwort, *Calypogeia azurea*, during in vitro culture. *Phytochemistry*. 31(5): 1667-1670.
- Navarrete, A., Martínez-Uribe, L. y Reyes, B. (1998). Gastroprotective activity of the stem bark of *Amphyterygium adstringens* in rats. *Phytother. Res.* 12:1-4.
- Navarrete, A., Reyes, B., Silva, A., Sixtos, C., Islas, P., y Estrada, E. (1990). Evaluación farmacológica de la actividad antiulcerosa de *Amphipterygium adstringens* (Cuachalalate). *Rev. Mex. Cienc. Farm.* 21: 28-32.
- Navarrete, A., Sánchez, R., Galicia, R., Reyes, B., Estrada, E. (1992). Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de la úlcera péptica en México. *Etnobotánica '92*. Córdoba, España. 20-26.
- Navarrete, A., Trejo, J.L., y Reyes, L., (2002) Principles of root bark of *Hippocratea excelsa* (Hippocrataceae) whit gastroprotective activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 79: 383-388.

- Nishiwaki, H., Takeda, H., Kitagawa y Khoel, H. (1989). Roles of gastric acid secretion and motility in gastric mucosal lesion formation induced by water-immersion stress in rat. *Scand J. Gastroenterol.* 24 (suppl. 162): 11-14
- Otsuka, H., Fukushima, Y., Tamai, M., Takahashi, H., Mori, H., Asano, T., Katsube, T., Ogawa, K., Kajiwara, T., Ohkawa, S. y Saitoh, T. (2000). Long-lasting binding of IT-066 to human histamine H₂ receptor. *Dig. Dis. Scs.* 45: 796-801.
- Pendleton, R., Bemlesky, R. y Crook, P. (1987). Effects of atropine upon various components mediating prostrandial gastric acid secretion. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 240: 396-399.
- Peskar, B. y Maricci, N. (1998). Role of prostaglandins in gastroprotection. *Dig. Dis. Sci.* 43(suppl. 9): 23S-29S.
- Peskar, B., Nenad, M., Gretzer, B., Schuligoi, R., y Schassmann, A. (2001). *Life Sciences.* 69:2993-3003.
- Rees, W. (1991). Mechanims of gastroduodenal protection by sucralfate. *Am. J. Med.* 91 (suppl. 2A), 58S-63S.
- Robert, A. (1979). Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterol.* 77: 761-767.
- Robert, A., Nezamis, J., Lancaster, C., Davis, J., Field, S. y Hanchar, A. (1983). Mild irritants prevent gastric necrosis through adaptive cytoprotection mediated by prostaglandins. *Am. J. Physiol.* 245 (gastrointest. Liver physio. 8):G113-G121.
- Rodríguez, H., Loera, E., Almaráz, C., Jiménez, N., Solano, A., Jacabo, J. (1999). Úlcera péptica con hemorragia. Análisis de egresos hospitalarios. *Rev. Gastroenterol Mex.* 64: 6-11.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

- Sáinz, R., Arroyo, M., y Gomollón, F. (1997). Úlcera péptica. *Medicine*. 5:31-37
- Sánchez, L.M., Ruedas, D., y Gómez B.C. (2001). Gastric antiulcer effect of *Rhizophora mangle* L. *Journal of Ethnopharmacology* 77: 1-3.
- Sanders, D.J., Mister, H.J., Howes, D., y Hepburn, P.A.(2000). The Safety Evaluation of Phytosterol Esters. Part 6. The Comparative Absorption of Phytosterols in the Rat. *Food and Chemical Toxicology*. 38: 485-491.
- Santos, A., Niero, R., Filho, V., Yuns, R., Pizzolatti, M., Monache, F.D. y Calixto, J.B. (1995). Antinociceptive properties of Steroids Isolated from *Phyllanthus corcovadensis* in Mice. *Planta Med.* 61:329-332.
- Secretaría de Salud (1999). Defunciones generales de la entidad federativa de residencia habitual del fallecido y causa, según sexo y edad (lista detallada). Sistema epidemiológico y estadístico de defunciones.
- Shay, D., Sun, D. y Gruenstein, M. (1954). Quantitative methods for measuring spontaneous gastric secretion in the rat. *Gastroenterology*. 906-917.
- Shorrock, C. y Rees, W. (1988). Overview of gastroduodenal mucosal protection. *Am. J. Med.* 84 (suppl. 2A):25-34
- Silen, W. (1988). Experimental models of gastric ulceration and injury. *Am. J. Physiol.* 255: 395-402.
- Singh, S. y Majumdar, D.K. (1999). Evaluation Of the gastric antiulcer activity of fixed oil of *Ocimum sanctus* (Holy Basil). *Journal of Ethnopharmacology*. 65:13-19.
- Smith, H. y Thier, O. (1989). Fisiopatología. Principios biológicos de la enfermedad. 2^a ed. Ed. Panamericana. Buenos Aires, Argentina.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

- Snykers, F. y Fourie, T. (1983). Eur. Patent EP 93520; (1983). En *Chemical Abstracts*. 100:39613.
- Sodeman, A. y Sodeman, M. (1984). Fisiopatología clínica. Mecanismos de producción de los síntomas. 6^a ed. Ed. Interamericana. México. D. F.
- Soll, A. (1994). Úlceras gástrica, duodenal y por estrés. Editores M. Sleisenger, J. Fordtran, B. Scharschmidt, M. Feldman y J. Cello en *Enfermedades gastrointestinales fisiopatología, diagnóstico y tratamiento*, tomo 1 pp. 623-624.
- Spiro, M. (1987). Peptic ulcer is not a disease-only a sign. *J. Clin. Gastroenterol.* 9: 623.
- Sun, X., Matsumoto, T., Yamada, H. (1991). Effects of a polysaccharide fraction from the roots of *Bupleurum falcatum* L. on experimental gastric ulcer models in rats and mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 43: 699704.
- Szabo, S.; Trier, J. y Frankel, P. (1981). Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. *Science* 214: 200-202.
- Szabo, S., Their, J., Brown, A. y Schoor, J. (1985). Early Vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury by ethanol in the rat. *Gastroenterology.* 88: 228-236.
- Szabo, S., y Goldberg, I. (1990). Experimental patogénesis: drugs and chemical lesion in the gastric mucosa. *Scand J. Gastroenterol.* 25 (suppl 174):1-8
- Tallarida, R., y Murray, R., (1981). *Manual of Pharmacologic Calculations. With Computer Programs.* Springer- Verlag. New York Heidelberg Berlin. 21-23.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

- Takeuchi, K.; Yagi, K.; Kitamura, M. y Kubomi, M. (1998). Stimulation of duodenal bicarbonate secretion by Carbenoxolone in rats: A comparative study with prostaglandin E₂. *Gen. Pharmac.* 30:739-744
- Tsukimi, Y. y Okabe, S. (2001). Recent advances in gastrointestinal pathophysiology: role of heat shock proteins in mucosal defense and ulcer healing. *Biol. Pharm. Bull.* 24: -9.
- Uchiyama, K., Wakatsuki, D., Kakinoki, B. Takeuchi, Y. Araki, T. y Morinaka, Y. (1999). The long-lasting effect of TU-199, novel H⁺/K⁺-ATPase inhibitor, on gastric acid secretion in dogs. *J. Pharm. Pharmacol.* 51: 457-464
- Valadéz, N. (1989). Síndromes gastroenterológicos más frecuentes en México. *Etiopsiopatogenia*. ENEP Iztacala, UNAM.
- Villalobos, P. (1985). Gastroenterología. Vol. I. 2^a ed. Ed. Méndez Oteo. México.
- Wallace, J., McKnight, W., Reuter, B., y Vergnolle, N. (2000). NSAID-Induced Gastric Damage in Rats : Requirement for Inhibition of Both Ciclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology*. 119:706-714.
- Wan, B. y Gottfried, S. (1985). Cytoprotective action of carbenoxolona sodium on ethanol-induced gastric lesion in rats and its inhibition by indomethacin. *J. Pharm. Pharmacol.* 37:739-741.
- Wyngaarden, S. (1985). Tratado de medicina interna. Vol. I. 16^a ed. Ed. Interamericana. México, D. F.

Actividad gastroprotectora de estigmasterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas Wistar

- Xue, S., Chen, S., Wu, J., Wang, M. (1996). Antigastric ulcerative actions emulsive granules of seed oil of *Brucea javanica*. *Shenyang Yaoke Daxue Xuebao*. 13: 13-17.
- Yamada, H., Sun, X., Matsumoto, T., Ra, K., Hirano, M., Kiyohara, H. (1991). Purification of antiulcer polysaccharides from the roots of *Bupleurum falcatum*. *Planta Med.* 57:555-559.
- Yamazaki, M.(1983). Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP. 5857316; En Chemical Abstracts 99. 16563.
- Yesilada, E., y Takaishi, Y. (1999). A saponin with anti-ulcerogenic effect from the flowers of *Spartium junceum*. *Phytochemistry*. 51:903-908.
- Yoshikawa, M., Hatakeyama, S., Yamahara, J. (1993). Extraction of sesquiterpenes (saussureamines from *Saussurea lappa* and their antiulcer activities). Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 06, 211, 826. En Chemical Abstracts (1995) Vol.122, 516.
- Zhang, J., Yan, C., Zhan, Y., Gao, W., Zhai, X. (1990). Effect of *Scopolia* drugs on the gastric mucosal lesion in rats. *Yaoxue Xuebao*. 25 (2):90-94. En Chemical Abstracts (1990) Vol.112,40.
- Zhong, Z. y Zhou, G. (1995). Preliminary study of polysaccharide from *Chinese aloe* (*Aloe vera* var *chinese*) on experimental gastric ulcer in mice. *Zhongcaoyao* 26(2): 83. en Chemical Abstracts.