

ACTIVIDAD DE LA GGT EN EL PROCESO ULCERATIVO DUODENAL INDUCIDO POR INDOMETACINA

Muñoz-Arrebola, P.; Salido, G.M.; Madrid, J.A.; Redondo, E. (*); Roncero, V.(*).
Departamento de Fisiología y Departamento de Medicina y Sanidad Animal (*).
Facultad de Veterinaria. 10071 Cáceres.

Summary: Muñoz-Arrebola, P; Salido, G.M.; Madrid, J.A.; Redondo, E.; Roncero, V. GGT activity during duodenal ulcerative process induced by indomethacin. Acta Veterinaria 2, 9-14, 1988.

Using an acute duodenal ulcer model in rats, we observed that changes in γ -glutamyl transpeptidase (GGT) activity seem to be in close connection with ulceration. We have found a significantly lower GGT activity in the duodenal mucosa four and eight hours before administration of indomethacin compared to the duodenal GGT activity of untreated animals. At the same time microvilli in the duodenal epithelium are shortened although the glicocalix is still present. In some areas a total absence of microvilli can be appreciated.

Key words: Indomethacin, duodenal ulcer, γ -glutamyl transpeptidase.

Plabras clave: Indometacina, ulcera duodenal, γ -glutamyl transpeptidase.

INTRODUCCIÓN.

La indometacina, derivado metilado del indol, es un potente inhibidor de la ciclooxigenasa, enzima que participa en la formación de prostaglandinas y que, al igual que otras drogas antiinflamatorias, desacopla la fosforilación oxidativa y deprime la biosíntesis de los mucopolisacáridos, cuando se administra a dosis supratrapéuticas (1). Está ampliamente admitido que el principal factor en la patogénesis de las lesiones gastrointestinales, causadas por la indometacina, es una deficiencia en la síntesis de prostaglandinas.

Por otro lado, la γ -glutamyl transpeptidasa (GGT), ha sido caracterizada como una peptidasa específica (EC 2.3.2.2) que cataliza la transferencia de residuos γ -glutamilo del glutatión a un aminoácido o péptido receptor, para formar el correspondiente γ -glutamyl aminoácido o péptido derivado (2). Esta función es parte importante de la síntesis proteica, particularmente de glutatión.

Algunos investigadores (3,4,5) han demostrado que agentes que contienen un grupo sulfidrilo, como cisteína y glutatión, tienen un papel significativo en los mecanismos patológicos de diferentes modelos de úlceras gastroduodenales, en los que también parece participar la GGT (6).

Es por ello que hemos investigado los posibles cambios en la actividad de la GGT en mucosa duodenal paralelamente a la evolución del proceso ulcerativo inducido experimentalmen-

te en ratas por administración subcutánea de indometacina.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Se han utilizado seis grupos de ratas Wistar machos de 200-210 g, procedentes del Servicio de Animalario de la Facultad de Veterinaria en Cáceres, y mantenidas en ayuno durante las 24 horas previas a la experimentación, pero con acceso libre al agua. Las ratas eran tratadas con una dosis única cutánea de indometacina (30 mg/kg peso corporal), según la técnica de Satoh (7), y decapitadas a las 4, 8, 12, 24 y 48 horas post-tratamiento.

Tras el sacrificio se procede a la disección del duodeno, del que se toman muestras para microscopía óptica y electrónica, y el resto se lava y mantiene durante el proceso de separación quirúrgica de la mucosa en solución salina isotónica enfriada a punto de congelación. La mucosa así obtenida es homogeneizada a 1500 rpm en un Potter S (B. Braun) refrigerado a 4° C.

En el homogenado se llevan a cabo las siguientes determinaciones:

1.- Contenido proteico, siguiendo el método de Bradford (8).

2.- Actividad GGT a 37° C, con la ayuda del "Monotest γ -GT nuevo" (Boehringer-Mannheim G.m.b.H.) y siguiendo las especificaciones del fabricante.

Para ambas determinaciones se emplea un espectrofotómetro Hitachi 152-20; en micros-

copía óptica un equipo Nikon Optiphot con cámara fotográfica incorporada, y en microscopía electrónica un equipo Jeol 100 SX.

De los resultados obtenidos en cada grupo experimental se calculó el valor medio y el error estandar de la media, y las diferencias se analizaron estadísticamente usando el test de la "t" de Student para datos no pareados.

RESULTADOS.

La actividad específica de la GGT en mucosa duodenal, sumariada en la Tabla 1, sufre una serie de modificaciones significativas en las 48 horas que siguen a la administración de indometacina. Concretamente, a las 4 horas la actividad específica de la GGT se encuentra sensiblemente disminuída, disminución que es más acusada a las 8 horas postratamiento. Sin embargo, la actividad enzimática se encuentra restablecida a los niveles previos a la administración de indometacina a las 12 horas, sin que en las determinaciones efectuadas a las 24 y 48 horas sigüentes a la inyección del agente ulcerooso sean diferentes a los valores control.

La observación microscópica del duodeno de ratas tratadas permite comprobar como, entre las 4 y 8 horas postratamiento, se produce un acortamiento de las microvellosidades (Fig. 1), apareciendo desorganizadas (Fig. 2), si bien se mantiene el glicocáliz en las que persisten (Fig. 3). Asimismo se observa una notable alteración de las células caliciformes del epitelio duodenal, que llega a presentar una total degranulación (Fig. 6).

A pesar del restablecimiento de los niveles normales de GGT a las 12 horas del tratamiento con indometacina, estructuralmente se aprecia pérdida focal de epitelio duodenal (Fig. 4), e incluso úlceras establecidas a las 24 horas (Fig. 5), que se hacen más patentes a las

48 horas, interesando a este tiempo a las capas submucosa y musculares (Fig. 7), y en algunos casos la serosa. De hecho, en tres de los ejemplares estudiados se observaron perforaciones duodenales 48 horas después de haber administrado 30mg/kg de indometacina.

DISCUSIÓN.

En nuestras condiciones experimentales, y en ratas control, la actividad de la GGT en mucosa duodenal tiene unos valores semejantes a los descritos para esta especie por otros autores (6). El descenso significativo que la indometacina ocasiona en dicha actividad es concordante con las observaciones de Balint et al (9) en mucosa gástrica de rata. De hecho la indometacina también provoca úlceras gástricas, de forma que a las 4-8 horas ya hay pérdida parcial de las células mucosas superficiales, preferentemente de la región fúndica, que interesan a mucosa y submucosa a las 48 horas (10).

La disminución de la actividad específica de la GGT observada al iniciarse el proceso ulcerativo puede conducir a una disminución de la síntesis proteica "de novo" (11, 12), síntesis que parece ser un paso importante en la citoprotección que se consigue con una correcta formación de mucoproteínas. De hecho nuestras observaciones microscópicas indican una pérdida de células secretoras de mucoproteínas y otros autores han demostrado que la incorporación de varios glúcidos marcados a las glucoproteínas del moco gástrico se inhibe tras el tratamiento con indometacina.

La recuperación observada en la actividad de la GGT a las 12 horas del tratamiento con indometacina podría, así mismo, ser un indicador del comienzo de los procesos reactivos regenerativos.

RESUMEN

Mediante el empleo de un modelo experimental de úlcera duodenal en rata, hemos observado que los cambios que se originan en la actividad específica de la GGT están estrechamente relacionados con el proceso ulcerativo. Se encuentra una actividad significativamente baja de la GGT duodenal a las 4 y 8 horas tras administración de indometacina en comparación con la actividad detectada en animales no tratados. Al mismo tiempo se observa un acortamiento del microvilli del epitelio duodenal, si bien permanece el glicocáliz. En algunas áreas se aprecia una ausencia total de microvilli.

GRUPO	GGT	n	signif.
Controles	21,12±2,8	5	-
a las 4 h	17,22±0,79	5	p<0,1
a las 8 h	10,80±2,99	5	p<0,025
a las 12 h	23,81±4,71	5	n.s.
a las 24 h	22,23±3,11	5	n.s.
a las 48 h	21,98±2,87	5	n.s.

Tabla 1.- Variaciones en la actividad específica de la GGT (expresada como 1×10^{-3} U/mg proteína \times min⁻¹) durante las 48 horas que siguen a la administración de indometacina. n.s. = no significativo.

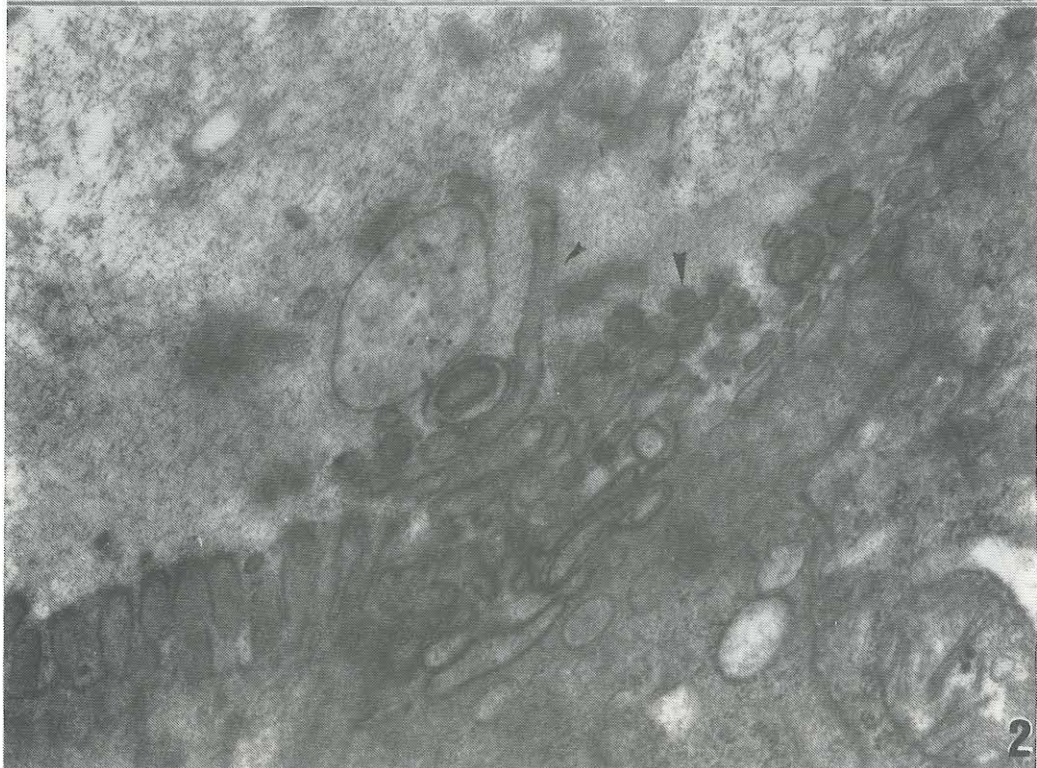
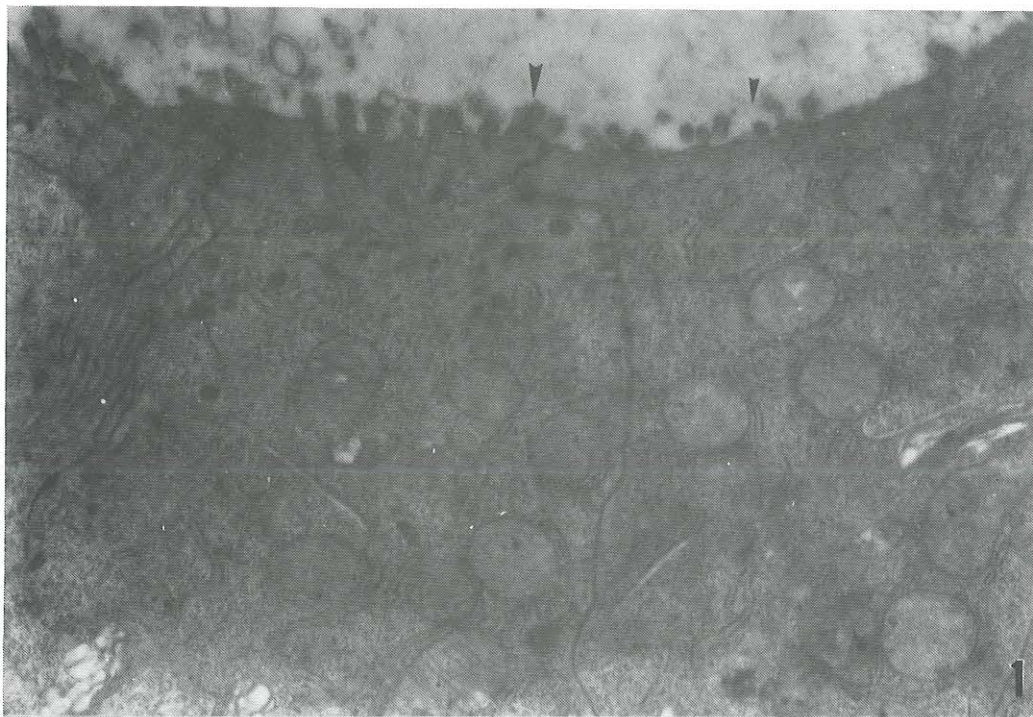


Figura 1.- Detalle de enterocitos (4-8 h postratamiento) con acortamiento de las microvellosidades (flecha) X19.000.

Figura 2.- Desorganización de microvellosidades (flecha) X25.000.

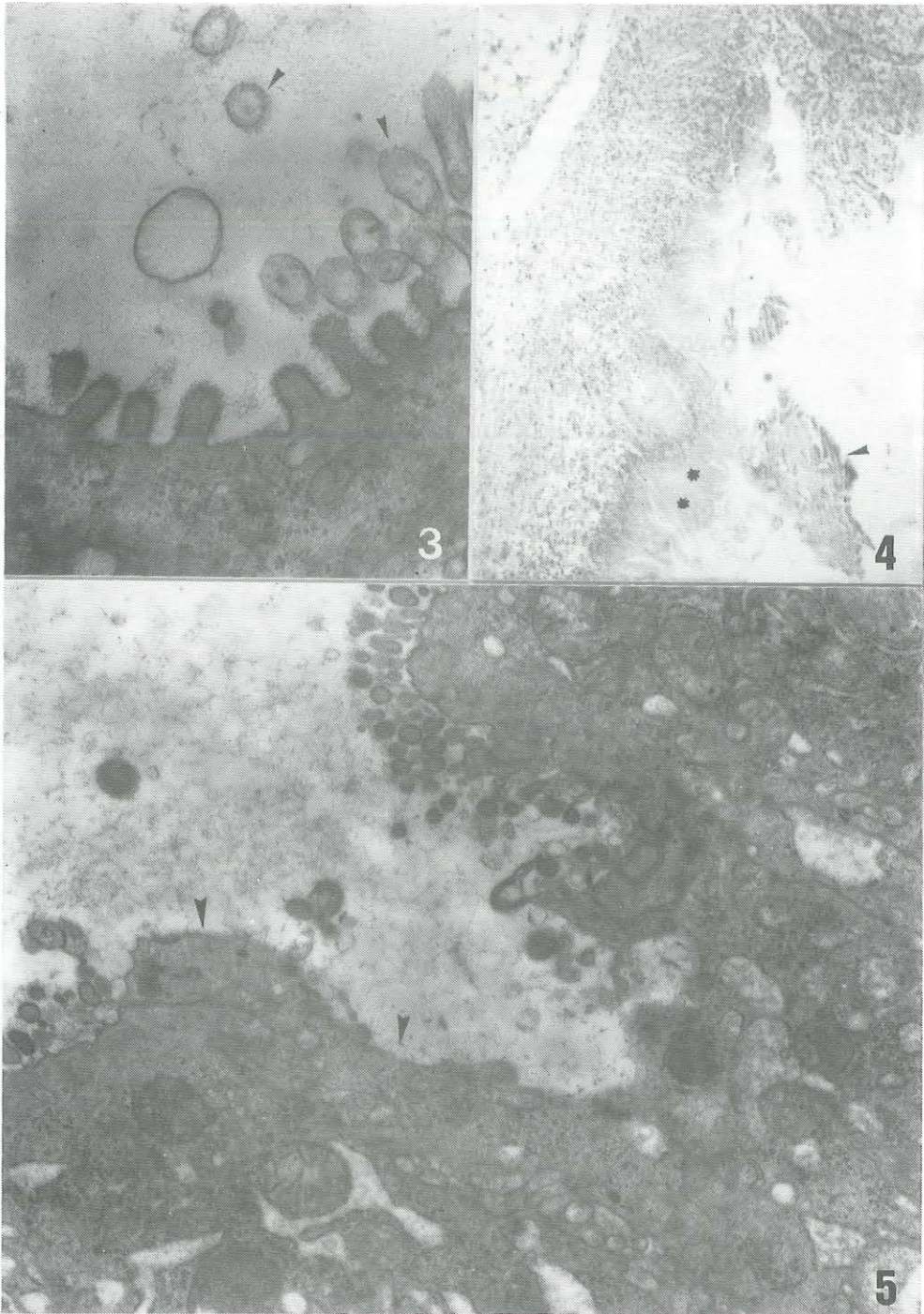


Figura 3.- Enterocitos con acortamientos en sus vellosidades e integridad del glicocalix (flecha) X19.000.

Figura 4.- Solución de continuidad de la mucosa entérica (12 h postratamiento) con afeción del epitelio (flecha) y lámina propia y submucosa (asterisco) X320.

Figura 5.- Pérdida parcial del epitelio de los enterocitos (24 h postratamiento), con signos de necrosis celular X23.500.

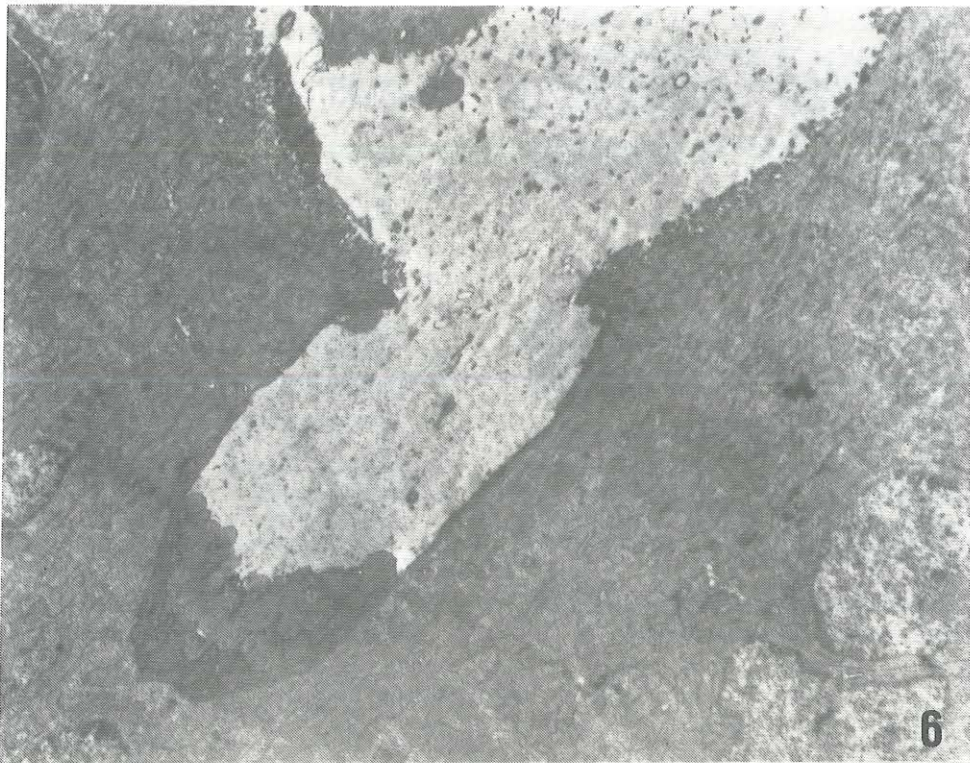


Figura 6.- Célula caliciforme con fenómenos de desgranulación citoplasmática. X11.500.
Figura 7.- Fibras musculares lisas (48 h postratamiento) con signos de degeneración y pérdida de la disposición lineal del componente miofibrilar (flecha). Se evidencia así mismo un intenso edema (asterisco) y presencia de fibroblastos en el espacio interfascicular (flecha). X10.000.

AGRADECIMIENTOS.

Los autores agradecen al Prof. Gázquez Ortiz, Director del Departamento de Medicina y Sanidad Animal, su generosa contribución a la realización del trabajo. A Dña. Pilar Parra y a D. Germán Fernández su asistencia técnica en el procesamiento de las muestras para microscopía. Gracias también a D. Felipe Moge-
na por su colaboración.

BIBLIOGRAFÍA.

- (1) FLOWER, R.J.; MONCADA, S.; VANE, J.R. (1982): Farmacoterapia de la inflamación. En: *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Goodman Gilman, A.; Goodman, L.S.; Gilman, A. Eds. pp. 674-719. Panamericana, Buenos Aires.
- (2) HANES, C.S.; HIRD, F.J.R.; ISHERWOOD, F.A. (1950): Synthesis of peptides in enzymatic reactions involving glutathione. *Nature*, 166: 288-292.
- (3) SZABO, S.; TRIER, J.S.; FRANKEL, P.W. (1981): Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. *Science*, 214: 200-202.
- (4) BALINT, G.A.; VARRO, V. (1981): Szulfhidril-tartalmu szerek hatasa patkanyok experimentalis ulcusara. *Kiserl. Orvostud.* (Hungarian) 33: 627-630.
- (5) BALINT, G.A.; VARRO, V. (1982): On the cytoprotective action of sulfhydryl-containing substances. *Acta. Physiol. Acad. Sci. Hung.* 60: 139-142.
- (6) NAFRADI, J.; BALINT, G.A.; CSATI, S.; VARRO, V. (1984): Gastrointestinal mucosal γ -glutamyl transpeptidase activity changes in different ulcer models of rat. *Agents and Actions* 15: 549-550.
- (7) SATOH, H.; INADA, I.; HIRATA, T.; MAKI, Y. (1981): Indomethacin produces gastric antral ulcers in the refeed rats. *Gastroenterology*. 81: 719-725.
- (8) BRADFORD, M.N. (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.* 72: 248-254.
- (9) BALINT, G.A.; CSATI, S.; NAFRADI, J.; VARRO, V. (1984): Gastric mucosal glutamyl transpeptidase activity in different experimental ulcer models of rat. *Molecular Physiol.* 5: 99-104.
- (10) GÁZQUEZ, A.; SALIDO, G.M.; RONCERO, V.; MUÑOZ-ARREBOLA, P.; MADRID, J.A. (1986): Gastrointestinal ulcers by indomethacin administration. *4th Joint Meeting of Veterinary Pathologists*. pp. 86. Córdoba, Spain.
- (11) BALINT, G.A.; VARRO, V. (1981): Actinomycin inhibits gastric mucosal protection by prostacyclin in rats. *Prostaglandins* 21: 255-257.
- (12) BALINT, G.A.; VARRO, V. (1982): Prostacyclin and protein synthesis inhibitors. Interaction on experimental gastric ulcer. *7th World Congress of Gastroenterology*. Stockholm, Sweden.