Acta Veterinaria 1: 29-35, 1987.

EFECTOS SECRETAGOGOS DE LA CIMETIDINA SOBRE LA SECRECIÓN PANCREÁTICA EXOCRINA DEL CONEJO.

Pariente, J.A.; Pozo, M.J.; Madrid, J.A.; Salido, G.M.

Departamento de Fisiología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura. 10071 Cáceres.

Summary:

The effect of cimetidine on pancreatic exocrine secretion was studied in anesthetized rabbits with acute pancreatic fistulas. The administration of the H2-antagonist increases significantly in a dose-dependent manner the flow of pancreatic secretion. Moreover, cimetidine decreases bicarbonate, total protein, lipase, amylase and tripsin concentration. On the contrary the content of chymotripsin did not change. These results suggest that cimetidine is a slight secretagoge on the rabbit exocrine pancreas. The possible mechanism through cimetidine effects the pancreatic tissue are discussed.

Palabras claves: Cimetidina, conejo, secreción pancreática.

INTRODUCCIÓN.

El papel de los receptores H2 de la histamina en la regulación de la secreción ácida gástrica está bien establecido (1,2), pero sus posibles implicaciones en el control de la secreción pancreática exocrina permanece aún sin conocerse. Los estudios realizados para determinar los efectos que producen los antagonista H2, como es la cimetidina, sobre el páncreas exocrino muestran unos resultados bastante contradictorios. Así, se ha reportado que la cimetidina no modifica la secreción basal de jugo pancreático de perro (3) pero si la estimulada por una comida estándar (4) o por secretina y CCK (3).

En ratas, mientras algunos autores han observado que la cimetidina disminuye la secreción pancreática estimulada (5), otros no encuentran ninguna modificación (6). Finalmente, Cavallini et al. (7) encuentran que tanto el flujo como la producción de bicarbonato, lipasa y quimotripsina se ven incrementados ligeramente por la administración del citado antagonista en humanos, pero Galmiche et al. (8) no detectan ninguna modificación en el mismo. Puesto que la secreción pancreática exocrina del conejo está bien caracterizada (9) y las divergencias anteriormente citadas podrían deberse en parte a distintas en la sensibilidad animal para la histamina, hemos iniciado la aproximación al problema analizando los efectos que la cimetidina tiene sobre la secreción pancreática exocrina en esa especie.

MATERIAL Y MÉTODO.

Animales y preparación quirúrgica.

Los experimentos se han llevado a cabo en conejos de la raza New Zealand, de ambos sexos y de pesos comprendidos entre 2.5 y 4 kg. Transcurridas 24 horas de ayuno, y después de anestesiar a los animales con una solución del 20% de uretano en solución salina (1.0 g/kg de peso corporal) se procede a la realización de

una laparotomía media que permite la canulación, cerca de su entrada en duodeno, del conducto pancreático principal; así mismo se liga el píloro y se canula el conducto biliar para drenar la secreción biliar al exterior.

Técnicas analíticas.

El volumen de jugo pancreático de cada muestra se determina gravimétricamente, asumiendo que la densidad de dicho jugo es igual a 1 g/ml. La concentración de bicarbonato se cuantifica añadiendo 50 µl de jugo pancreático a 4.95 ml de ClH 0.01N. Posteriormente y tras calentar la mezcla hasta punto de ebullición y enfriar, se procede a una valoración ácido-base con NaOH 0.01N en un titrador automático (Crisom). El ión cloruro se valora por volumetría potenciométrica con NO_3Ag 0.01N, utilizando un titrador automático (Crisom). El contenido en proteína total de la secreción pancreática se determina mediante la técnica colorimétrica de Bradford (10) y los resultados se expresan en mg/ml utilizando albúmina bovina (Merck, 12081) como patrón. La actividad amilolítica se ensaya midiendo colorimétricamente la producción de maltosa a partir de un sustrato de almidón y la actividad enzimática se expresa en unidades de actividad amilásica (U.A.A.) (11). La actividad lipásica se mide mediante la titración, durante 5 minutos a pH constante de 8.5 y 37 °C, de los ácidos grasos liberados a partir de un sustrato de trioleína (12). Las unidades de activida lipásica se definen como la cantidad de enzima que libera 10 µEq de ácido por minuto. La quimotripsina se determina tras la activación del quimotripsinógeno del jugo pancreático según el métodod de Reboud et al. (13) y posterior titración a pH 7.9 y 25 °C de los equivalentes ácidos liberados a partir de un sustrato de ATEE (Merck, 83). Una unidad de actividad de quimotripsina se define como la cantidad de enzima que hidroliza un mol de sustrato en un minuto. Previamente a la determinación de tripsina se activa el tripsinógeno presente en el jugo pancreático durante 24 h. a 0°C, posteriormente se calcula la actividad trípsica mediante la titración durante 5 min de los equivalentes de ácidos liberados a partir de un sustrato de BAEE (14) (Merck, 16720). Se considera como una unidad trípsica a la cantidad de enzima que hidroliza un mol de BAEE en un minuto.

Drogas.

La cimetidina (Tagamet N.R., Smith Kline & French) se administra en inyecciones aleatorias de 5, 10, 20 y 40 mg/kg, a través de la vena femoral. En todos los casos se fija un periodo de 40 min entre inyecciones sucesivas.

Análisis de datos.

Los resultados se expresan como la media ± E.E.M. de varios experimentos. La evaluación estadística de los datos se realizó mediante el test de la t de student para datos apareados.

RESULTADOS.

Efectos de la cimetidina sobre la fracción hidromineral del jugo pancreático.

En conejos anestesiados, a los que se ha ligado el píloro para evitar la interferencia de la secreción gástrica, la secreción pancreática exocrina presenta un flujo basal relativamente elevado (4.36±0.68 µl/min) que se mantiene sin grandes variaciones a lo largo del expermento. La administración del antagonista H2, cimetidina, produce un aumento, dependiendo de la dosis, en el flujo del jugo pancreático (Fig. 1). Este aumento es estadísticamente significativo para las dosis de 10 mg/kg (7.95±1.48 µl/min), 20 mg/kg (6.42±1.29 µl/min) y 40 mg/kg (8.60±1.59 µl/min). En la mayoría de los casos este aumento en el flujo es transitorio, recuperándose los niveles basales antes de transcurridos 30 min.

Las concentraciones de los aniones inorgánicos, bicarbonato y cloruro, tanto en situación basal como tras la inyección

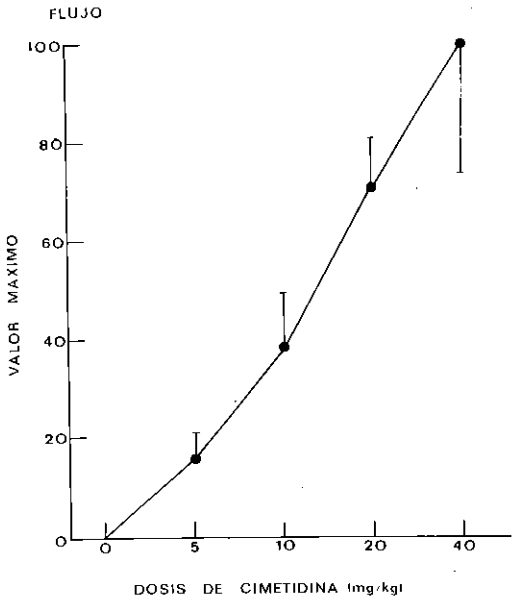

Figura 1: Incrementos en el flujo pancreático de conejo en respuesta a dosis crecientes de cimetidina. Los resultados se han representado en forma porcentual con respecto a la máxima respuesta. Cada valor es la media ± E.E.M. de 6 experimentos (1 experimento/animal).

del antagonista H2, muestran un comportamiento opuesto, con la particularidad de que la suma de ambos aniones permanece constante (166-179 mM). La administración de cimetidina produce un aumento en la concentración de bicarbonato y una disminución en la de cloruro (Fig. 2). Estos efectos son estadísticamente significativos y de una cuantía similar, independientemente de las dosis de cimetidina ensayadas.

Efectos de la cimetidina sobre la fracción enzimática del jugo pancreático.

La concentración proteica del jugo pancreático disminuye con la administración del fármaco, siendo el descenso observado en este parámetro dependiente de la dosis. Sin embargo sólo los efectos producidos por la dosis de 20 y 40 mg/kg son estadísticamente significativos ($p< 0.05$) (Fig. 3). Dada la elevación producida en el flujo por la cimetidina, la producción de proteína se mantiene próxima a los valores basales con la excepción de la dosis de 40 mg/kg que produce un incremento significativo ($p< 0.05$). El contenido del jugo pancreático en los enzimas lipasa, tripsina y amilasa muestra un descenso comprendido entre el 30 y el 50%, sin que se observe una definida relación dosis-respuesta (Fig. 4). Por el contrario el contenido en quimotripsina presenta un perfil diferente, la máxima disminución que experimenta su concentración es de un 5% para las dosis de 10 y 20 mg/kg. Esta disociación en la evolución de la concentración de los enzimas pancreáticos se observa más claramente en la figura 5, en la que hemos representado en un círculo los valores porcentuales de los diferentes enzimas con relación a su valor basal. Todas las dosis de la cimetidina ensayadas producen un efecto similar a la representada: lipasa, amilasa y tripsina reducen su valor desde un 100% en situación basal a un 60-70% tras cimetidina, mientras que la quimotripsina mantiene su proporción inicial.

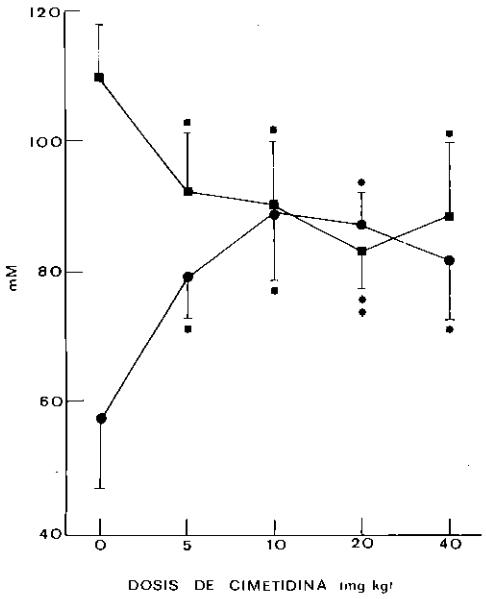

Figura 2: Modificaciones de la concentración de bicarbonato (●) y cloruro (■) del jugo pancreático de conejo en respuesta a dosis crecientes de cimetidina. Los resultados son la media ± E.E.M. de 6 experimentos (1 experimento/animal). (*) $p< 0.05$ (**) $p< 0.01$. n=6.

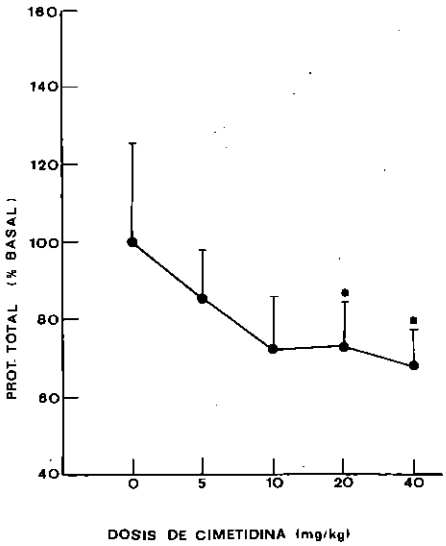

Figura 3: Efectos de dosis crecientes de cimetidina sobre la concentración de proteína total del jugo pancreático de conejo. Los índices secretores se han representado porcentualmente con respecto al valor basal. Los resultados son la media ± E.E.M. de 6 experimentos (1 experimento/animal). (*) p< 0.05 . n=6.

DISCUSIÓN.

La mayoría de los intentos realizados para poner de manifiesto el papel fisiológico de la histamina sobre la secreción basal de jugo pancreático no han encontrado modificaciones en dicha secreción como consecuencia de la utilización de antagonistas H2 (5, 15). Ello ha llevado a sus autores a concluir que deberían excluirse a los receptores de la histamina de la regulación fisiológica de la secreción pancreática. Sin embargo, a nuestro juicio, las preparaciones animales utilizadas en dichos estudios no son las más apropiadas para el estudio de las modificaciones que los antagonistas H2 provoquen sobre la secreción basal de jugo pancreático, ya que la rata anestesiada y el perro anestesiado son animales con un flujo basal escaso (0.006 y 0.3 µl/min respectivamente) y que presentan además una gran variabilidad. Además la enorme variación en la sensibilidad a la histamina que presentan las diferentes especies animales, obliga a extender este estudio a otras especies. Teniendo en cuenta estos condicionantes hemos elegido para abordar este tema la preparación fístula aguda en conejo anestesiado con ligadura de píloro, lo que nos permite disponer de un relativamente elevado y estable flujo basal a la vez que trabajar con una especie para la que previamente Liebow et al. (15) ha mostrado su alta sensibilidad a la histamina.

En nuestras condiciones experimentales, la cimetidina, a las dosis utilizadas, se ha mostrado eficaz elevando el flujo de jugo pancreático de una manera dosis-dependiente. Este efecto secretor de la cimetidina no ha sido encontrado previamente en ninguna de las especies estudiadas, a pesar de que en algún caso las dosis de cimetidina ensayadas han sido similares a las empleadas por nosotros.

La relación incremento de flujo-dosis de cimetidina, presenta una pendiente

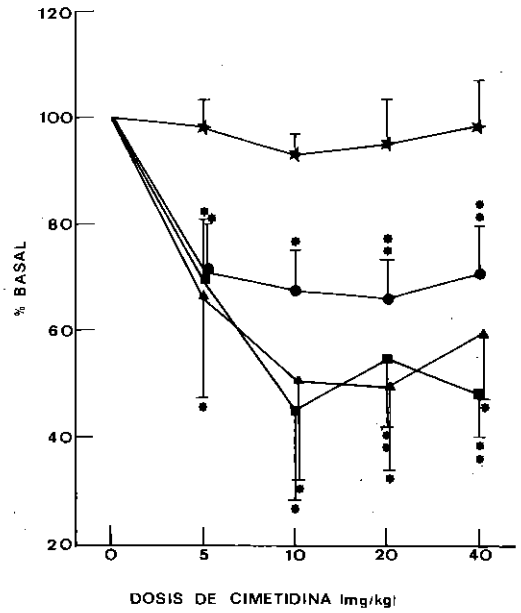

Figura 4: Respuesta secretora enzimática del páncreas de conejo a la cimetidina. Los índices secretores para los cuatro enzimas son representados como % del valor basal. Los cuatro enzimas analizados son: lipasa (▲), amilasa (■), tripsina (●) y quimotripsina (★). (*) p< 0.05 (**) p< 0.01. n=6.

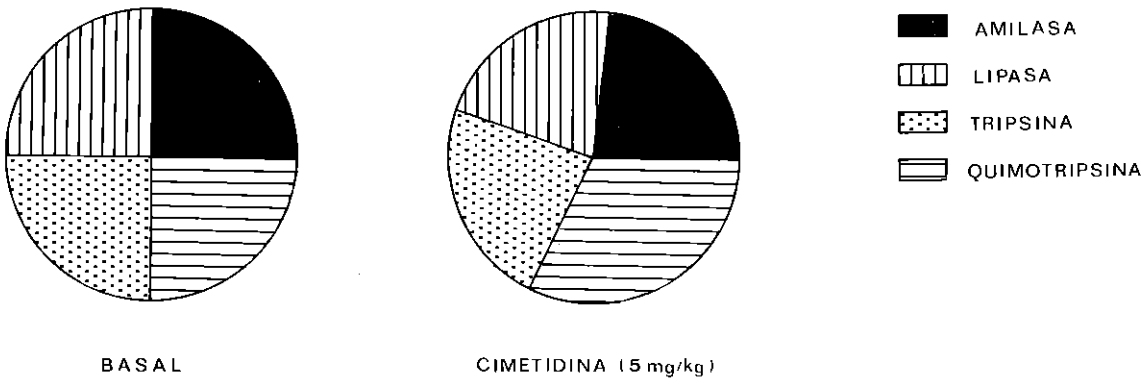

Figura 5: Porcentajes relativos de los diferentes enzimas pancreáticos antes y después de un tratamiento con cimetidina (5 mg/kg). Los sectores circulares se han calculado asignando a cada una de las concentraciones enzimáticas basales el valor de 1/4 de círculo. n=6.

prácticamente constante para las cuatro dosis de cimetidina, lo que nos lleva a pensar que estamos aún lejos de la saturación del efecto estimulante de la cimetididna sobre el flujo pancreático. Sin embargo la dosis de cimetidina más baja que nosotros hemos utilizado (5 mg/kg) es aproximadamente 10 veces superior a la D50 que es capaz de inhibir la secreción gástrica estimulada por histamina en varias especies animales (16). Por tanto cualquiera de las cuatro dosis de la droga empleadas en nuestro estudio serán igualmente eficaces para inhibir completamente la secreción gástrica. Consecuentemente con esto es difícil pensar que el efecto estimulante de la secreción pancreática sea mediado por el bloqueo de los receptores H2.

El aumento descrito para el flujo corre paralelo al obsevado en la concentración de bicarbonato.La disminución de la concentración de cloruro junto con el aumento en la de bicarbonato parecen sugerir un claro efecto "secretin-like" promovido por la droga. Así mismo, la disminución observada en las concentraciones de proteína total y enzimas podría deberse, más que a un efecto directo de la cimetidina sobre las células acinares pancreáticas, a la dilución del contenido del jugo como consecuencia del aumento del flujo. Dado que la posibilidad de que la cimetidina provoque la liberación de secretina endógena no cuenta con ninguna evidencia experimental (17, 18), hemos de pensar en varias explicaciones alternativas.

Por un lado se ha descrito que la cimetidina puede tener ligeros efectos colinérgicos ya que inhibe la actividad de la acetilcolinesterasa (19, 20). Por otro lado, cabe también la posibilidad de que los efectos observados sean un reflejo de cambios vasculares promovidos por la droga, y por último no podemos descartar que la cimetidina actúe directamente sobre células ductulares pancreáticas,

mientras que su acción sobre células acinares sería prácticamente nula.

Con relación a la ruptura del paralelismo en la secreción de enzimas promovido por la administración de cimetidina, cabe señalar que constituye una prueba adicional que viene a corroborar la existencia de una secreción no paralela bajo determinadas condiciones de estimulación. La modificación de la proporción de quimotripsina es similar a la que se obtiene como consecuencia de la estimulación con quimoduodenina (21), sin embargo de nuestros resultados no podemos deducir que esta hormona sea liberada por cimetidina.

De nuestro trabajo podemos concluir que la cimetidina actúa como un secretagogo sobre el páncreas exocrino del conejo, si bien su acción, más que a un bloqueo de los receptores H2 de la histamina, hemos de atribuirla a alguno de los efectos colaterales de la cimetidina, tales como efectos vasculares o colinérgicos sin que por el momento podamos precisar su naturaleza.

RESUMEN.

Se ha estudiado el efecto de la cimetidina sobre la secreción pancreática exocrina del conejo. En animales anestesiados provistos de fístulas pancreáticas agudas, la administración del antagonista H2, produce un aumento dosis-dependiente en el flujo pancreático, siendo este incremento estadísticamente significativo a las dosis de 10, 20 y 40 mg/kg. La cimetidina incrementa además la concetración de bicarbonato y reduce la de cloruro, efectos que son estadísticamente significativos y de una magnitud similar en todas las dosis ensayadas. La concentración de proteína total, lipasa, amilasa y tripsina disminuye con la administración del fármaco de manera dosis-dependiente, pero no se observa esta disminución en el contenido de quimotripsina. Estos resultados sugieren que la cimetidina actúa como un secretagogo sobre el páncreas exocrino del conejo, discutiéndose los posibles resultados de este efecto.

BIBLIOGRAFÍA.

(1) CODE, C.F. (1982): Histamine receptors and gastric secretion. En: Pharmacology of Histamine Receptors. GANELLIN, C.R. and PARSONS, M.E. ed., pp. 217-235. Wright, PSG, Bristol.

(2) HIRSCHOWITZ, B.I. (1985): An update on histamine receptor and the gastrointestinal tract. *Dig. Dis. Sci.*, **30:** 998-1004.

(3) BERTACCINI, G.; CORUZZI, G. (1985): Histamine H2-receptor agonists and antagonists on pancreatic exocrine secretion of the dog. *Agents and Actions,* **16:** 211-214.

(4) MADRID, J.A.; SALIDO, G.M.; DE VICTORIA, E.M., MATAIX, F.J. (1985): Cimetidine and postprandrial pancreatic exocrine secretion in dogs. *Agents and Actions,* **17:** 145-149.

(5) CHARIOT, J.; ROZE, C.; VAILLE, C. (1979): Effects de la cimétidine sur la sécrétion pancreátique externe chez le rat. *Thérapie,* **34:** 367-376.

(6) VARGA, G.; SCARPIGNATO, C.; PAPP, M. (1985): Inhibition of pancreatic secretory and trophic response to caerulein by the H2-receptor antagonist ranitidine in the rat. *Digestion,* **31:** 177-182.

(7) CAVALLINI, G.; VAONA, B.; BOVO, P.; MIRACHIAN, R.; ANGELLINI, G.; SCURO, L.A. (1978): Effect of histamine H2-receptor antagonists on the exocrine pancreatic secretion. *Acta Hepato-Gastroenterol.* **25:** 388-390.

(8) GALMICHE, J.P.; COLLIN, R.; AL-SAATI, M.N.; GEFFROY, Y. (1977): Effect of cimetidine on pancreatic exocrine secretion. *Lancet,* **1:** 647-648.

(9) DE DIOS, I.; ARRANZ, A.; LÓPEZ, M.A. (1986): The effect of hypothermia on exocrine pancreatic secretion in rabbits. *Comp. Biochem. Physiol.,* **83:** 677-681.

(10) 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.

(11) NORLTING, G.; BERNFIELD, P. (1948): Sur les enzymes amylolytiques, III la α-amilasa: dosage d'activite et controlo de l'absege d'ß-amilase. *Helv. Chim. Acta,* **31:** 286-290.

(12) MARCHIS-MOUREN, G.; SARDA, L.; DESNUELLE, P. (1959): Purification of hog pancreatic lipase. *Arch. Biochem. Biophys.*, **83:** 309-319.

(13) REBOUD, J.P.; MARCHIS-MOUREN, G.; PASERO, L.; COZZONE, A.; DESNUELLE, P. (1966): Adaptation de la vitesse de biosynthése de l'amilase pancreátique et du chymotripsinogéne á des régimes riches en amidon ou en proteines. *Biochem. Biophys. Acta,* **117:** 351-367.

(14) REBOUD, J.P.; BEN ABDELJLILI, A.; DESNUELLE, P. (1962): Variations de la teneur en enzymes do pancréas de rat en function de la composition des régimes. Biochem. *Biophys. Acta,* **58:** 326-337.

(15) LIEBOW, C.; FRANKLIN, J.E. (1982): Histamine stimulation of digestive enzyme secretion by in vitro rabbit pancreas. *Dig. Dis. Sci.,* **27:** 234--241.

(16) STABLES, R.; DALY, M.J.; HUMPHRAY, J.M. (1983): Comparison of antisecretory potency and duration of action of the H2-receptor antagonists AH22216, cimetidine, ranitidine and SK&F 93479 in the dog. *Agents and Actions,* **13:** 166-169.

(17) BELL, P.M.; HENRY, R.W.; BUCHANAN, K.D.; ALBERTI, K.G.M.M. (1985): Cimetidine fails to supress the rise in plasma secretin during fasting. *Regulatory Peptides,* **10:** 127-131.

(18) KIM, M.S.; LEE, K.Y., CHEY, W.Y. (1979): Plasma secretin concentrations in fasting and postprandrial states in dogs. *Am. J. Physiol.,* **236:** 539-544.

(19) GWEE, M.C.E.; CHEAH, L.S.; LEE, H.S. (1985): Glanglion blocking activity of cimetidine in the anaesthetized cat. *Clin. Experim. Pharmacol.* & Physiol., **12:** 475-480.

(20) LEE, H.S.; CHEAH, L.S.; GWEE, M.C.E. (1985): Inhibition of acetylcholineserase by histamine agonists and antagonists. *Clin. Experim. Pharmacol. & Physiol.,* **12:** 613-620.

(21) ADELSON, J.W.; NELBACH, M.E.; CHANG, R.; GLASER, C.B., YATES, G.B. (1980): Chymodenin: Between "factor" and "hormone". En; Comprhensive Endocrinology, Gastrointestinal Hormones. Jerzy Glass, G.B. ed. vol 20, pp 387-396, Raven Press, New York.