

ESTUDIO HISTOMORFOMETRICO E HISTOQUIMICO DE LAS MODIFICACIONES INDUCIDAS POR QUERCETINA SOBRE MUCOSA GASTRICA DE RATA EN UN MODELO DE ULCERACION PROVOCADO POR ETANOL ABSOLUTO

C. Alarcón de la Lastra, M.J. Martín, V. Motilva
Laboratorio de Farmacognosia y Farmacodinamia
Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, España

INTRODUCCION

En el presente trabajo se ha realizado un estudio histomorfológico e histoquímico del daño inducido por etanol absoluto (Robert, 1979) en la mucosa gástrica de ratas sometidas a un tratamiento previo con Quercetina (200 mg/kg). Así mismo, se han determinado las modificaciones inducidas en el contenido glicoproteico de las secreciones glandulares.

Los resultados obtenidos se compararon con Carbenoxolona (80 mg/kg) y con dos grupos control:

- Control 1, solución salina fisiológica
- Control 2, solución salina fisiológica + etanol absoluto

MATERIAL Y METODOS

Utilizamos el modelo descrito por Bulbena y cols. (1986). Los cortes fueron teñidos con Hematoxilina/Eosina, PAS y Azul Alcian (AA) (pH 0.5). Los estudios morfométricos se llevaron a cabo valorándose tanto en áreas necróticas como en zonas no necrosadas de la mucosa.

El microscopio, Olympus BH, se conectó a un analizador de imágenes CCD Camera Mintron y con un lápiz electrónico se

delimitaron las áreas de las figuras proyectadas desde el microscopio sobre la pantalla, evaluándose tanto la extensión del daño en la glándula, como la superficie ocupada por el contenido de la secreción mucóide.

-Extensión del daño en la glándula gástrica.

Para determinar la extensión y el grado del daño producido por el etanol absoluto se midieron los siguientes parámetros en las series de cortes teñidos con Hematoxilina/Eosina, seleccionándose áreas necrosadas de la mucosa:

. Longitud total de mucosa examinada (mm)/ rata.

. Porcentaje total de mucosa lesionada

. Porcentaje de mucosa lesionada, cuantificado según la siguiente escala propuesta por Lacy (1982):

0- Células superficiales intactas, de aspecto, localización y densidad normal. Glándulas profundas y estrechas con células mucosas del cuello, parietales, principales y endocrinas intactas.

1- Células mucosas superficiales vacuoladas, con núcleos picnóticos. Exfoliación de algunas células superficiales. Células del interior glandular no dañadas.

2- Daño extenso de las células superficiales. Células de la foveola glandular exfoliadas o alteradas. Resto de la glándula sin dañar.

3- Daño evidente en la pared gástrica. Numerosas células exfoliadas y capas necróticas. Pérdida de la capa foveolar, células parietales con frecuencia en superficie.

- Contenido en glicoproteínas totales y sulfatadas

Las tinciones con PAS y Azul Alcían en las series de cortes correspondientes nos proporcionaron una medida del contenido de glicoproteínas presentes en la superficie glandular.

Estos estudios histoquímicos se llevaron a cabo en cinco campos distintos, para cada rata, y solo se valoraron aquellos en que se observaba la glándula gástrica en su totalidad, por lo que las áreas seleccionadas correspondían a zonas no necrosadas de la mucosa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En todos los grupos tratados se observó una significativa reducción en el porcentaje de mucosa lesionada, ($p < 0.01$), en relación a los animales que recibieron exclusivamente el agente ulcígeno, ya que en éstos, el daño se muestra evidente en toda la superficie mucosal analizada (100%). Histológicamente se aprecia una lesión celular extensa en el tercio superior de la mucosa gástrica (zona foveolar), ($77.88 \pm 7.6\%$), profundizando hasta zonas del cuello glandular con exfoliación de células epiteliales mucosecretoras, por lo que es frecuente observar células oxínticas en superficie. Trás la administración de Quercetina este daño fué considerablemente menor ($18.16 \pm 11.9\%$), siendo del mismo rango que el del fármaco de referencia ($19.42 \pm 6.60\%$), Tabla I.

El porcentaje de mucosa dañada con grado 1 fué relativamente elevado en todos los grupos tratados con los fármacos en estudio ($28.17 \pm 1.5\% - 34.66 \pm 3.90\%$). Sin embargo en el grupo control 2, se

alcanzaron valores muy bajos, (5.43+3.8%). La apariencia microscópica de estos estómagos muestra pérdida de células epiteliales superficiales permaneciendo el resto del área foveolar sin alterar.

La administración intragástrica de etanol absoluto tiende a aumentar tanto el área PAS+ (glicoproteínas neutras) como la proporción de moco gástrico teñido con Azul Alcian, (glicoproteínas sulfatadas). El tratamiento con ambos fármacos, así mismo, incrementó el material mucoso PAS+ y AA+ en las glándulas gástricas, obteniéndose valores significativamente más altos con respecto al control 1 si bien la administración de Quercetina 200 mg/kg produjo un leve aumento en los valores glicoproteicos respecto al grupo control 2, (Tabla II).

Como las glicoproteínas neutras son las más abundantes y posiblemente las que tienen una función más destacada en la mucosa gástrica es lógico suponer que su reposición cuantitativa representa una vuelta a la normalidad de la mucosa y por lo tanto la recuperación de la capacidad defensiva frente a la agresión provocada por el etanol absoluto.

El incremento observado en los valores de glicoproteínas podría estar asociado, así mismo, a procesos regenerativos de la mucosa (Kohsokabe, 1982; Nakamura, 1982) y su reducción está relacionada con una disminución de la resistencia de la barrera mucosal.

BIBLIOGRAFIA

BULBENA O., ESCOLAR G., ESPLUGUES J.V., MARTI-CABRERA M., ESPLUGUES J.; Efectos del acexamato de zinc sobre la síntesis de moco gástrico en la úlcera por estres, estudio comparativo con otros fármacos"; Rev. Farmacol. Clín. Exp. 3, 105-109, 1986.

KOHSOKABE S., UMEHARA S., ITO H., HAYASHI T.; "Histochemical studies on the experimental gastric ulcers induced in rats by serosa-searing (S-S) method, changes of mucosubstances in S-S ulcer"; En: Advances Exp. Ulcer, IVth International Conference for Experimental Ulcer (ICEU), Umehara S., Ito H. (Eds.), Tokyo; pp 395-404, 1982.

LACY E.R., ITO S.; "Ethanol induced insult to the superficial rat gastric epithelium. A study of damage and rapid repair"; En: Mechanism of mucosal protection in the upper gastrointestinal tract, Allen A. (Eds.), Raven Press, New York; pp 49-86, 1984.

MARTI-BONMATI E., ALINO S. F., LLORIS S.M., ESPLUGUES J.; "Effects of cimetidine, atropine and prostaglandin E2 on rat mucosal erosions produced by intragastric distention"; Eur. J. Pharmacol. 68, 49-53, 1980.

NAKAMURA N., SAKAGUCHI Y., HARA S., KIJIMA M.; "Relationship between location of water immersion stress ulcer, mucus distribution and mucosal blood flow of the stomach in rats"; En: Advances Exp. Ulcer, IVth International Conference for Experimental Ulcer (ICEU), Umehara S., Ito H. (Eds.), Tokyo; pp 168-175, 1982.

ROBERT A.; "Cytoprotection by prostaglandins"; Gastroenterology 77, 761-767, 1979.

	Longitud mucosa examinada/rata (mm)	Longitud total lesionada (%)	Longitud dañada (%)		
			1	2	3
Control 1	4.94±0.21	0	-	-	-
Control 2	4.80±0.5	100±0.0	5.43±3.8	16.69±7.1	77.88±7.6
Carbenox. 80 120 min	4.83±0.4	63.21±8.1 **	34.66±3.9	9.82±5.4	19.42±6.6
Quercetina 200 120 min	4.99±0.6	54.71±13.7 **	28.17±5.1	8.37±5.3	18.16±11.9

** p<0.01

Tabla 1. Evaluación histomorfométrica del daño mucosal inducido por etanol absoluto. Control 1 (sin tratar), Control 2 (tratado con etanol abs.), Carbenoxolona (80 mg/kg) y Quercetina (200 mg/kg).

Tabla II. Contenido mucoproteico glandular. Control 1 (sin tratar), Control 2 (tratado con etanol absoluto) Carbenoxolona (80 mg/kg) y Quercetina (200 mg/kg).

	Long. mucosa examinada/rata (mm)	Area PAS+ (μm^2) *	Area Azul Alcian+ (μm^2) *
Control 1	1.82 \pm 0.3	278.78 \pm 31.50	28.62 \pm 3.5
Control 2	1.68 \pm 0.4	316.84 \pm 16.9 (a)	40.99 \pm 3.8 (b)
Carbenoxolona 80 120 min	1.79 \pm 0.9	518.05 \pm 57.5 (c)(e)	41.36 \pm 7.7 (b)(d)
Quercetina 200 :20 min	1.76 \pm 0.9	467.85 \pm 29.4 (c)(d)	49.76 \pm 5.0 (b)(d)

* Cada valor representa el área PAS+ o Azul Alcian+, μm^2 , para 10 μm de superficie mucosal examinada

(a) no significativo respecto al grupo Control 1

(b) $p < 0.05$ respecto al grupo Control 1

(c) $p < 0.01$ respecto al grupo Control 1

(d) no significativo respecto al grupo Control 2

(e) $p < 0.05$ respecto al grupo Control 2