

Estimulación de la actividad péptica del jugo gástrico, inducida por látex de *Croton palanostigma* (sangre de grado)

Croton palanostigma (sangre de grado) latex-induced gastric juice peptic activity stimulation

Miguel Sanvodal¹, Salomón Ayala¹, Raquel Oré¹, Rudi Loli¹, Oscar Huamán¹

¹ Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición Alberto Guzmán Barrón, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

Resumen

Objetivo: Determinar si la administración del látex de *Croton palanostigma* (sangre de grado), vía digestiva, modifica la actividad péptica de la secreción gástrica. **Diseño:** Estudio experimental. **Institución:** Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición Alberto Guzmán Barrón, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **Material biológico:** Ratas albinas machos adultos y sangre de grado. **Métodos:** Se usó 50 ratas albinas machos adultos, entre 200 y 250 g de peso, que fueron distribuidas aleatoriamente en 5 grupos, a los que se administró por vía oro-gástrica, y en dosis única, como sigue: grupo I: 0,8 mL/kg de sangre de grado; grupo II: 0,8 mL/kg de sangre de grado neutralizada; grupo III: ranitidina 50 mg/kg; grupo IV: control, con solución salina 0,9 g% (sin histamina); grupo V: control con solución salina 0,9 g%. Se realizó ligadura pilórica, por laparotomía, con anestesia de éter etílico. Se utilizó histamina, aplicada por vía subcutánea, para estimular la secreción, excepto al grupo IV. Cuatro horas después, se extrajo el jugo gástrico, se midió el volumen, el pH por potenciometría y la actividad de la pepsina, por el método de Anson modificado, expresado como µg de tirosina/mL. **Principales medidas de resultados:** Modificación de la actividad péptica de la secreción gástrica. **Resultados:** El volumen del jugo gástrico fue significativamente menor en los grupos II y III; que en los otros, entre los que no hubo diferencia estadística. El pH del grupo III (con ranitidina) fue significativamente mayor que los otros, demostrando el efecto del fármaco. La actividad péptica fue: con sangre de grado $5,34 \pm 1,04$; sangre de grado neutralizada $2,69 \pm 1,27$; grupo ranitidina $2,57 \pm 0,88$; el control sin histamina $3,29 \pm 0,94$ y control con histamina $3,58 \pm 1,18$. La actividad péptica fue significativamente mayor (+49,2%) en el grupo con sangre de grado ($p < 0,01$) que en los otros grupos. **Conclusiones:** Encontramos incremento de la actividad péptica gástrica tras la aplicación del látex de *Croton palanostigma* (sangre de grado) por vía gástrica, sin variación del pH.

Palabras clave: Pepsina; látex; *Croton palanostigma*; jugo gástrico.

Abstract

Objective: To determine if *Croton palanostigma* (sangre de grado) oral administration modifies gastric secretion peptic activity. **Design:** Experimental study. **Institution:** Alberto Guzman Barron Biochemistry and Nutrition Research Center, Faculty of Medicine, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **Biologic material:** Adult male albino rats and sangre de grado. **Methods:** Fifty 200 to 250 g adult male albino rats were randomly distributed in 5 groups according to sangre de grado oro-gastric one dose administration: group I: 0,8 mL/kg of sangre de grado; group II: 0,8 mL/kg of neutralized sangre de grado; group III: ranitidine 50 mg/kg; group IV: control group with saline solution 0,9 g% (without histamine); group V: control group with saline solution 0,9 g%. Pyloric ligature by laparotomy was done under ethylic ether anesthesia. Subcutaneously applied histamine was used to stimulate secretion, except to group IV. Four hours later, gastric juice was extracted, volume was measured, pH was determined by potentiometry and pepsin activity by modified Anson method, measured as tyrosine µg/mL. **Main outcome measures:** Gastric secretion peptic activity modification. **Results:** Gastric juice volume was significantly lower in groups II and III, with no statistic difference in the other groups. Group III pH (with ranitidine) was significantly higher, showing the medicine effect. Peptic activity was as follows: $5,34 \pm 1,04$ with sangre de grado; $2,69 \pm 1,27$ with neutralized sangre de grado; $2,57 \pm 0,88$ the ranitidine group; $3,29 \pm 0,94$ control group without histamine and $3,58 \pm 1,18$ control group with histamine. Peptic activity was significantly higher (+49,2%) in the sangre de grado group ($p < 0,01$). **Conclusions:** There was gastric peptic activity following the oro-gastric administration of *Croton palanostigma* (sangre de grado), with no pH variation.

Key words: Pepsin; latex; *Croton palanostigma*; gastric juice.

INTRODUCCIÓN

En la región amazónica, especialmente en Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia, se las conoce con el nombre de 'sangre de drago' a unas pocas especies del género *Croton* productoras de una resina de color rojo vinoso, en la que se ha identificado varias propiedades medicinales⁽¹⁻³⁾.

En el Perú, se ha publicado sobre cinco especies del género *Croton* designadas popularmente como 'sangre de drago' o 'sangre de grado', de las cuales dos han recibido especial atención por parte de los investigadores: *C. palanostigma* Klotsch y *C. lechleri* Muell, de sabor astringente. En Bolivia, *C. draconoides* Muell. Arg. es un árbol pequeño con savia, amarillo⁽²⁾.

La sangre de grado es usada en forma tradicional desde tiempo muy antiguo y en la actualidad se ha demostrado sus propiedades medicinales, como cicatrizante, antiviral, antiinflamatorio, por el contenido del alcaloide taspina y el principio SP-303, una *proantocianidina oligomérica*⁽⁴⁻⁸⁾. Es también un excelente cicatrizante, desinflamante, para uso externo, para el tratamiento de las úlceras gástricas, también en la inflamación dérmica; se usa también en el acné y se dice que eleva las defensas del organismo⁽⁹⁻¹¹⁾.

Nosotros hemos demostrado su acción citoprotectora sobre la mucosa gástrica en ratas, mediante la estimulación de la producción de moco gástrico después de su administración por vía oral, con

ligadura pilórica y estimulación con histamina⁽¹²⁾.

Se clasifica las enzimas proteolíticas en función de sus mecanismos catalíticos. Todas las proteasas pertenecen a unas de estas cuatro clases: serina, cisteína, metalo o aspartil proteasas⁽¹³⁾.

La pepsina (EC 3.4.2.3, ver Figura 1) es una enzima inespecífica que inicia la digestión de las proteínas, siendo esta la principal enzima del jugo gástrico. La pepsina necesita un medio ácido (pH de 1,5 a 2,2) para tener actividad óptima, y este medio lo proporciona el ácido clorhídrico (HCl), secretado también por las glándulas gástricas. Las glándulas gástricas contienen principalmente cua-

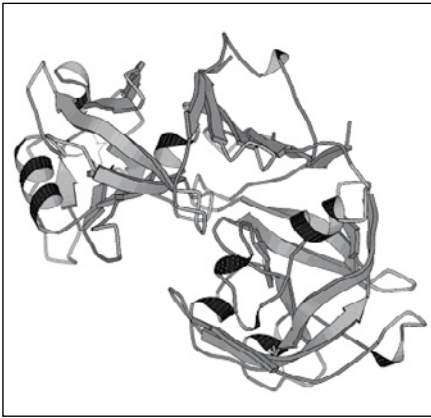


Figura 1. Estructura en 3D de pepsina humana (*homo sapiens*) 3a (código PDB: 1psn; 326 residuos), refinado a una resolución de 2,20 Å⁽¹⁶⁾.

tro tipos de células: oxínticas, zimógenas, mucosas, endocrinas (D, G, enterocromafines, entre otras). Las glándulas fúndicas y del cuerpo contienen los cuatro tipos; las glándulas cardíacas y pilóricas contienen por lo general solo dos. Las células oxínticas, que se encuentran en las glándulas fúndicas y del cuerpo, producen ácido clorhídrico a partir de cloruro de sodio, agua y anhídrido carbónico. El ácido clorhídrico es segregado en los 'canales intracelulares', donde no dañan a las células mismas⁽¹⁴⁾.

En las glándulas del fondo y del cuerpo también hay células zimógenas. Estas células producen una sustancia conocida como pepsinógeno, que es el precursor inactivo de la pepsina, la cual se activa en presencia del ácido clorhídrico⁽¹⁵⁾. El pepsinógeno tiene un peso molecular de 42,5 KDa; el medio ácido separa una porción de la molécula, produciéndose la pepsina, con peso molecular de 34,5 KDa⁽¹⁶⁾.

La pepsina es una endopeptidasa; hidroliza los enlaces peptídicos internos de una proteína. Su acción es más efectiva en los enlaces peptídicos próximos a los aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina). A diferencia de su zimógeno precursor, los cambios adaptativos de la pepsina en valores de pH superiores a 6 producen descensos irreversibles de la actividad catalítica^(17,18).

La secreción gástrica es controlada en forma paralela de diferentes maneras; en ella participan tanto mecanismos nerviosos como endocrinos y se considera

que se da mediante tres fases, la céfálica, la gástrica y la intestinal, teniendo un gran papel estimulador las sustancias que llegan a la luz del estómago, pudiendo activar o inhibir la secreción de las glándulas gástricas en su conjunto⁽¹⁹⁾.

Hemos citado las características atribuidas a la sangre de grado y entre ellas la estimulación de la función mucoprotectora gástrica. El objetivo de esta investigación fue determinar si la administración del látex de *Croton palanostigma* (sangre de grado), por vía digestiva, modifica la actividad péptica de la secreción gástrica.

MÉTODOS

Se realizó un estudio de tipo experimental. Para el estudio, se utilizó material vegetal (látex de *Croton palanostigma*), material farmacológico (soluciones estériles de ranitidina, cloruro de sodio al 9 g/L, histamina), material animal (50 ratas albinas machos entre 200 y 250 g) y material químico (fueron grado Q.P. (químicamente puro)).

Se estudió cinco grupos, cada uno con 10 animales, con aplicación orogástrica y en dosis única del látex puro, látex neutralizado, ranitidina o suero fisiológico, con la posterior administración subcutánea de histamina 50 µg/kg, a excepción del grupo IV, como sigue:

- Grupo I: Se les administró sangre de grado 0,8 mL/kg de peso.
- Grupo II: Se les administró sangre de grado neutralizada, 0,8 mL/kg de peso. La neutralización del látex se realizó con hidróxido de sodio, hasta pH 7.
- Grupo III: Administración de ranitidina 50 mg/kg.
- Grupo IV: Control, sin histamina; se les administró solución salina 0,9 g% (sin descarga posterior de histamina).
- Grupo V: Control con histamina; se les administró solución salina 0,9 g%.

En cada caso, el volumen administrado fue 10 mL/kg de peso, completándose con suero fisiológico.

En todos los casos, la aplicación del látex, ranitidina y solución salina fue después de haber puesto a los animales en ayuno sólido por 24 horas y retirado el líquido del bebedero por 2 horas, antes del tratamiento experimental. Se esperó una hora después de la administración del látex ranitidina o solución salina, según el caso, para realizar una laparatomía, bajo anestesia con éter etílico, en la cual se practicó la ligadura pilórica; luego, se realizó una descarga de histamina (50 mg/mL, en dosis 0,1 mL/kg peso del animal) y, 4 horas después, se realizó gastrectomía, nuevamente bajo anestesia con éter etílico, y se colectó el contenido gástrico, manteniéndolo en refrigeración hasta su procesamiento.

Se midió en jugo gástrico: su volumen; pH por medio de potenciometría; la actividad péptica por el método de Anson modificado, mediante hidrólisis de albúmina 5 mg/mL en HCl 0,06 mol/L; se detuvo la reacción con ácido tricloroacético al 10 g% y se determinó los productos, con solución de Folin Ciocalteu 1 mol/L, en medio carbonato de sodio 0,55 mol/L; el color de la reacción es proporcional a la actividad péptica medida en espectrofotómetro a 660 nm, con estándar de tirosina, expresando la actividad de la pepsina como mg tirosina/mL.

RESULTADOS

Se muestra los resultados en la Tabla 1, encontrándose que los volúmenes del jugo gástrico en los grupos II (sangre de grado neutra) y grupo III (ranitidina), fueron significativamente menores que en los otros grupos.

El pH del grupo III (ranitidina) tuvo un valor mayor que todos los demás, verificándose así la acción del fármaco, es decir, reducir la acidez y volumen del jugo gástrico. El pH de los grupos con sangre de grado pura o neutralizada (grupos I y II) tuvo valores ácidos dentro del rango normal, es decir no mostraron variación.

La actividad péptica por mL de jugo se observó significativamente mayor en el grupo I (con sangre de grado) y menor que el grupo al cual no se le aplicó histamina subcutánea. La actividad péptica/mL de

Tabla 1. Valores de pH, volumen de jugo gástrico y actividad péptica, en jugo gástrico de ratas.

Grupo	Tratamiento	n	Acidez pH	Volumen (mL)	Actividad péptica	% actividad
I	látex gástrico	10	1,54 ± 0,38	7,28 ± 0,52	5,34 ± 1,04	+ 49,2 [†]
II	látex neutralizado	10	1,57 ± 0,24	4,87 ± 0,41 *	2,69 ± 1,27	- 24,9
III	ranitidina	10	2,54 ± 0,42 *	4,49 ± 0,65 *	2,57 ± 0,88	- 28,2
IV	control sin histamina	10	1,50 ± 0,27	7,04 ± 0,47	3,29 ± 0,94	- 8,1
V	control con histamina	10	1,49 ± 0,28	7,04 ± 0,58	3,58 ± 1,18	100

* Presentan diferencia significativa respecto al grupo control, $p < 0,05$.

[†] Presentan diferencia significativa respecto al grupo control, $p < 0,01$.

jugo gástrico fue 49,2% mayor en el grupo I (con sangre de grado) que el control; en los animales del grupo III (ranitidina), esta fue significativamente menor.

DISCUSIÓN

Los tratamientos antiinflamatorios y antiulcerosos de la mucosa gástrica, así como para algunas dispepsias digestivas, entre otras, incluyen medicamentos que tienden a reducir la acidez, bloqueando a los receptores H_2 o la bomba de protones, lo cual desfavorece la actividad de la pepsina, al no encontrarse en un medio de pH óptimo para su actividad; así se demuestra en el grupo de animales con ranitidina, del grupo III; el pH promedio fue 2,31, habiéndose observado una reducción significativa del -28,2% de actividad péptica respecto al grupo control.

En el grupo I de animales tratados con sangre de grado y estimulación de histamina, hubo 49,2% de incremento de la actividad péptica en el jugo gástrico, respecto al grupo IV (control con histamina), diferencia con alta significancia estadística.

Según nuestros resultados, la acción local de la sangre de grado sobre la mucosa gástrica (grupo I) induce a la mayor actividad glandular, logrando segregar mayor cantidad de la enzima digestiva, sin desmedro de la formación de ácido clorhídrico, pues se observó un pH de 1,54, lo cual sería favorable para la actividad de la pepsina.

La sangre de grado es usada como producto natural para las gastritis y úlceras gástricas, habiendo sido demostrado, en nuestras investigaciones previas, el efecto protector sobre la mucosa gástrica en ratas⁽¹²⁾, lo que hace que la sangre de grado

sea un producto de citoprotección, incrementando el moco gástrico, sin elevar el pH, pero incrementando la secreción péptica, a diferencia de otros estudios^(20, 21); es usual que los citoprotectores sintéticos y naturales utilizados o investigados en la actualidad no afectan la secreción de pepsina o la inhiben⁽²²⁻²⁵⁾.

En otros estudios, se ha observado que la secreción gástrica es inhibida en modelo de estudio semejante al nuestro, cuando usaron *Bidens pilosa* L. Var. *Radiata schult. Bip.*, en ratas, en la cual la disminución se produjo de manera dosis dependiente, alcanzando significancia estadística a 1 g/kg de peso para el volumen de jugo gástrico y 2 g/kg para la secreción del ácido y la actividad de la pepsina⁽²⁰⁾.

En el estudio de la fisiología gástrica, después de la administración de un extracto hidrolcohólico de hojas de *Bixa orellana*, en modelo animal semejante al nuestro, se encontró que dicho extracto no provocó variación del pH a dosis de 100 y 200 mg/kg de peso, mientras que a 400 mg/kg de peso se manifestaron cambios en el pH; así mismo, el tratamiento con ranitidina no indujo variación significativa del pH⁽²⁶⁾.

Se puede entonces apreciar, según nuestros resultados, que la acción del látex de *Croton palanostigma* o sangre de grado sobre la mucosa gástrica estimula la secreción de pepsina, favoreciendo así la degradación de las proteínas de la dieta y como consecuencia mejora la digestión. De esta manera, la sangre de grado podría ser utilizada también en los casos de dispepsia gástrica; esto, además, explicaría por qué la referencia de la reducción de los malestares digestivos en los pacientes con gastritis y úlceras gástricas tras el uso de la sangre de grado.

En la especie *C. palanostigma* se ha identificado los siguientes componentes químicos: heterósidos, tanino, ácido benzoico y celulosa^(4,5,7). La resina (dracoresina) está constituida por ésteres de alcohol resínico (dracopresinetanol), taspina, ácido benzoil acético, una sustancia blanca denominada dracoalbano y residuos vegetales⁽²⁷⁾. Debemos dar como hipótesis que algunos de sus compuestos pueden ser causantes de esta estimulación, no tan solo de la actividad péptica sino también del moco gástrico⁽¹²⁾; esto lo pueden hacer ciertas sustancias, como las prostaglandinas, en la fase gástrica de la digestión, la estimulación del flujo sanguíneo, la distensión de las paredes gástricas o el contenido gástrico⁽¹⁹⁾.

Por lo tanto, concluimos que, en nuestras condiciones experimentales, la aplicación del látex de *Croton palanostigma* (sangre de grado) por vía gástrica, ocasiona incremento de la actividad péptica gástrica, sin variación del pH.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arellano P. El libro verde. Guía de recursos terapéuticos vegetales. Lima: Ministerio de Salud; 1992. p. 33,46,53.
2. Estrella E. Plantas medicinales amazónicas. Tratado de Cooperación amazónica. Lima: Secretaría Pro Tempore; 1995. p. 210,212.
3. Barriga R. Plantas útiles de la Amazonia peruana. Lima: CONCYTEC; 1994.
4. Tapia SB, Príncipe H, Rachumi M. Estudio controlado del efecto preventivo y terapéutico de *Croton palanostigma*, *Aloe vera* y omeprazol, sobre lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas albinas. Congreso Peruano de Gastroenterología. Lima, Perú. 1996.
5. Malaga E. Efecto del clorhidrato de taspina sobre la curación de úlcera gástrica inducida en ratas. Tesis de Bachiller en Biología. Lima-Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 1991.
6. Ayala S, Diaz D, Palomino M, Armas S, Paz J. Efecto protector de *Croton palanostigma* y *Aloe vera* frente a la injuria aguda de mucosa gástrica inducida por etanol en ratas. An Fac med. 1999;60(1):22-9.
7. López-Neira L. Elaboración de una farmacéutica de aplicación tópica con efecto cicatrizante a partir del extracto atomizado del látex de sangre de drago. Tesis Químico Farmacéutico. Lima-Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1999.
8. Lapa AJ. Validasao de plantas medicinais utilizadas nos distúrbios gatrointestinais. Sao Paulo: CYTED; 1998.

9. Adami E, Marzzi-Uberti E, Turba C. Pharmacological research on gafarmate, a new synthetic isoprenoid with an antiulcer actino. Arch intern Phasmacodynamie ther. 1964;147:113-45.
10. Vaisberg AJ, Milla M, Planas MC, Córdova JL, Agusti ER, Ferreira R, et al. Taspine is cicatrizant principle in sangre de grado extracted for Croton lechleri. Planta Med. 1994;60(6):541-5.
11. Milla ME. Estudio sobre el mecanismo de acción del principio activo taspine de sangre de grado. Tesis Bachiller en Biología. Lima, Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 1985.
12. Sanvodal M, Ayala S, Oré R, Arroyo JI. Inducción de la formación de moco gástrico por sangre de grado (*croton palanostigma*). An Fac Med. 2002;63(4):251-6.
13. Evered D, Whelan J (ed.). Protein degradation in health and disease. Amsterdam: Excerpta Medica, 1980. p. 1-13.
14. Sielecki AR, Fedorov AA, Boodhoo A, Andreeva NS, James MNG. The molecular and crystal structures of monoclinic porcine pepsin refined at 1.8 Å resolution. J Mol Biol. 1990;214:143-70.
15. Bryksa BC, Tanaka T, Yada RY. N-terminal modification increases the neutral-pH stability of pepsin. Biochemistry. 2003;42:13331-8.
16. Foltmann B, Pedreson VB. Comparison of the primary structures of acidic proteases and their zymogens. Adv Exp Med Biol. 1977;95:3-22.
17. Lin Y, Fused M, Lin X, Hartsuck JA, Tang J. pH dependence of kinetic parameters of pepsin, Rhizopuspepsin and their active-site hydrogen bonds mutants. J Biol chem. 1992;267:18413-8.
18. Chen H, Langer R. Magnetically-responsive polymerized liposomes as potential oral delivery vehicles. Pharm Res. 1997;14:537-40.
19. Pocock G, Richards Christopher D. Filosofía humana: La base de la Medicina. Barcelona: Ed. Elsevier. 2005.
20. Alvarez A, Pomar FS, Montero MJ. Gastric antisecretory and antiulcer activities of an ethanolic extract of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Schult. Bip J Ethnopharmacol. 2999;67:333-40.
21. Kordás K, Szalmay G, Bardoez S, Pusztai Á, Verga G. Phytohaemagglutinin inhibits gastric acid but not pepsin secretion in conscious rats. J Physiol-Paris. 2001;95:309-14.
22. Nagashima R, Hashino E, Hinohara Y, Sakai K, Haa S, Nakano H. Effect of sucralfate on ethanol induced gastric mucosal damage in the rat. Scand J Gastroenterol. 1983;3(suppl 83):17-20.
23. Szabo S, Trier JS, Frankel JW. Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. Science. 1981;214(9):200-2.
24. Tarnawski A, Hollander D, Gergely, Krause WJ. Protection by prostaglandin of gastric mucosa against thermal (boiling water) injury factor fiction. (Res) VA Med Gastro. 1979;77:433.
25. Tarnawski A, Hollander D, Cummings D, Krause WJ, Zipser RD. Are antacids acid neutralizers only, histologic, ultrastructural and functional changes in normal gastric mucosa induced by antacid. Gastroenterology. 1984;86(5) part 2:1276.
26. Huamán O, Arnao I, Béjar E, Sandoval M. Efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de Bixa Orellana (achiote), en la secreción gástrica de ratas. An Fac med. 2007;68(4):314-20.
27. Berstad A. A modified hemoglobin substrate method for the estimation of pepsin in gastric juice. Scand J Gastroenterol. 1970;5(5):343-8.

Manuscrito recibido el 29 de agosto de 2008 y aceptado para publicación el 18 de setiembre de 2008.

Correspondencia:

Lic. TM. Miguel Sandoval Vegas
 Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición,
 Facultad de Medicina, UNMSM.
 Av. Grau 755. Lima 1, Perú.
 Correo-e: mhsave@gmail.com