

Efectos de la ciclofosfamida sobre la actividad disacaridásica intestinal en ratas

Por los Dres.:

TROADIO L. GONZALEZ PEREZ,⁵ ANA MARIA DIAZ CANEL NAVARRO,⁶ MERCEDES GAMEZ FONSECA** y la Téc. MARIA ELENA IDUATE CALVERA⁷

González Pérez, T. L., y otros. *Efectos de la ciclofosfamida sobre la actividad disacaridásica intestinal en ratas*. Rev Cub Med 17: 1, 1978.

Se estudia la actividad disacaridásica intestinal (sacarasa, maltasa y lactasa) en ratas tratadas con ciclofosfamida [N, N-bis-(beta-cloruro de etilo)-N, O-esterdiamida del ácido fosfórico propilén], y se encuentra que la actividad de la sacarosa y de la maltasa disminuyen significativamente, mientras que la actividad de la lactasa, si bien sufre una disminución, la misma no es significativa.

INTRODUCCION

Los carbohidratos presentes en la dieta son principalmente oligo y polisacáridos que requieren una hidrólisis previa, hasta el estadio de monosacáridos, en el intestino delgado, antes de que ellos puedan ser absorbidos y utilizados por el organismo. Con tal propósito existen varias carbohidrasas a nivel del tracto digestivo, las cuales reciben diferentes nombres según la fuente donde se originan o el sitio donde se las encuentra. Así se sabe de la existencia de la llamada amilasa salival, secretada fundamentalmente por las glándulas parótidas; de la amilasa pancreática, secretada, como su nombre lo indica, por el páncreas exocrino; y las disacaridasas, localizadas a nivel de las microvellosidades de las células epiteliales (enterocitos) de la mucosa del intestino delgado [Gray, 1970].¹

Las disacaridasas se las puede considerar como enzimas, que al ser inicialmente endocelulares sufren, durante un proceso de maduración estructural y funcional de las células que las producen, una migración hasta una posición del todo extracelular, ya que las mismas se encuentran contenidas, en una forma más o menos ordenada, en estructuras esféricas de 60 a 70 Å de diámetro ligadas al componente o capa proteica externa de la membrana de las microvellosidades intestinales por un fino pedículo, sumergidas en la anárquica red de fibras de glicoproteínas que constituye el glicocáliz (Johnson, 1969;² Ficholtz, 1967).³

La actividad disacaridásica intestinal puede ser de dos tipos: a) alfa-glicosidásica y b) beta-glicosidásica [Gray y Santiago, 1966].⁴

⁵ Profesor auxiliar de fisiología humana normal del centro de ciencias básicas "Victoria de Girón" del ISCMH.

⁶ Profesora asistente de fisiología humana normal y patológica del centro de ciencias básicas "Victoria de Girón" del ISCMH.

⁷ Técnica de laboratorio de investigación del centro de ciencias básicas "Victoria de Girón" del ISCMH.

Como consecuencia de la actividad alfa-glicosidásica la sacarosa, maltosa, isomaltosa y dextrinas límites se desdoblan en sus componentes monoméricos sencillos; mientras que debido a la actividad beta-glicosidásica la lactosa y otros beta-glicósidos sintéticos son desdoblados (Gray y Santiago, 1966),¹ (Das y Gray, 1970),¹ lo que condiciona un activo recambio de proteínas durante la maduración y migración de las células epiteliales de la mucosa intestinal, desde las criptas de Lieberkühn donde se originan, hasta el vértice de la vellosidad intestinal, donde son eliminadas constantemente hasta la luz del intestino delgado.

El hecho de que tanto la sacarasa como la maltasa se sintetizan y catabolizan durante la migración de los enterocitos hacia el vértice de las vellosidades intestinales, sugiere la existencia de factores que pueden influir en la síntesis, la degradación, o ambas, de las disacáridasas en cuestión, lo que explicaría los cambios adaptativos observados en sus actividades frente a la administración de substratos adecuados, así como otras sustancias entre las cuales figuran numerosos fármacos (Gray y Santiago, 1966;¹ Das y Gray, 1970).⁵

Al contrario de lo que sucede con la maltasa y la sacarasa, la lactasa no es claramente inducible, por lo que éste es un tema aún polémico (Asp, 1971).⁶

Hipótesis de trabajo y objetivos

Teniendo en cuenta lo expresado anteriormente y el hecho de que la velocidad de recambio de las células epiteliales de la mucosa del intestino delgado, es del orden de 1,35 días (Leblond y Stevens, 1948)⁷ y que las mismas experimentan un notable e importante proceso de diferenciación estructural y funcional en su migración hacia el vértice de la vellosidad, desde el fondo de las criptas o glándulas de Lieberkühn, donde se originan, fue que se pensó en la posibilidad de que la administración de una sustancia capaz de interferir los procesos de la

división, crecimiento, diferenciación y funciones generales celulares, como la ciclofosfamida [Goodman y Gilman, 1965]⁸ pudiera modificar la actividad disacáridásica intestinal (sacarasa, maltasa y lactasa), y demostrarlo fue el objetivo de este trabajo.

MATERIAL Y METODO

Se empleó un total de 10 ratas albinas, machos, de la variedad Wistar, de peso comprendido entre 250 y 260 gramos, a las cuales se les administró ciclofosfamida disuelta en cloruro de sodio al 0,85%, a razón de 2 mg por kg de peso corporal, por vía intramuscular, hasta completar 12 dosis consecutivas. Estos animales tuvieron libre acceso al agua y a los alimentos.

El grupo control estuvo constituido por 10 animales de peso corporal promedio equivalente al de los animales del grupo experimental, tratados con el mismo régimen de vida, manipulación y alimentación que estos últimos, y se diferenciaron de los mismos, prácticamente, en que no recibieron la administración de la ciclofosfamida.

Una vez concluida la administración de la ciclofosfamida los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico a razón de 40 mg por kg de peso corporal, administrado por vía intraperitoneal, y una vez alcanzado el sueño anestésico, se procedió a practicar una amplia incisión en la línea media del abdomen hasta penetrar en la cavidad peritoneal donde fue localizado el ángulo de Treitz a partir del cual se tomaron 110 mg de intestino delgado. Cada fragmento fue lavado en solución salina fisiológica a la temperatura de equilibrio de las fases hielo-agua, y se procedió inmediatamente después a su abertura en sentido longitudinal y lavado suave subsiguiente en la misma solución. La muestra fue colocada en un tubo de vidrio apropiado, se le añadieron 2 ml de agua destilada fría, y se homogeneizó la misma acto seguido. Durante el tiempo de homogeneización de 3 minutos, el tubo de vidrio se mantuvo introducido en un medio constituido por escarcha de hielo. El homogeneizador utilizado fue un

dispositivo tipo "Potter" a mil rpm. El homogeneizado así obtenido fue centrifugado a -5°C oor espacio de 10 minutos a 2 000 rpm. Con el sobrenadante se hicieron diluciones 1:5 y 1:15 para la determinación de las actividades sacarásicas y maltásicas, respectivamente, según el método descrito por *Dahlqvist* (1964)."

La determinación de la actividad lactá- sica se hizo siguiendo el mismo método, y la muestra se procesó sin dilución alguna.

La concentración de proteínas fue de- terminada por el método de *Lowry* y *co- laboradores* (1951).¹⁰

El método estadístico utilizado fue el de comparación de medias a través del *test* "t" de *Student*, previo estudio de la homogeneidad de la varianza.

RESULTADOS

En los animales controles o no tratados las actividades maltásicas y sacarásicas fueron de $3,86 \pm 0,54$ micromoles de glucosa por mg de proteína por 10 minutos y $1,26 \pm 0,27$ micromoles de glucosa por mg de proteína por 10 minutos, respectivamente. La actividad lactá- sica fue de $0,36 \pm 0,08$ micromoles de glucosa por mg de proteína por 10 minutos (cuadro).

CUADRO
ACTIVIDAD DISACARIDASICA INTESTINAL

¡A Moles de glucosa/mg de proteína/10 minutos		
Enzima	Animales no tratados	Animales tratados
Maltasa	$3,86 \pm 0,54$	$2,01 \pm 0,68$
Sacarasa	$1,26 \pm 0,27$	$0,63 \pm 0,08$
Lactasa	$0,36 \pm 0,08$	$0,30 \pm 0,06$

En los animales tratados con ciclofos- famida las actividades maltásica y sacarásica fueron de $2,01 \pm 0,68$ micromoles de glucosa por mg de

proteína por 10 minutos y $0,63 \pm 0,08$ micromoles de glucosa por mg de proteína por 10 minutos, respectivamente. La actividad lactá- sica fue de $0,30 \pm 0,06$ micromoles de glucosa por mg de proteína por 10 minutos (cuadro).

La diferencia entre los valores promedios de las actividades maltásica y sacarásica correspondientes a los animales del grupo control y a los tratados con ciclofosfamida fue estadísticamente significativa ($p < 0,01$) (gráfico).

La diferencia entre los valores promedios de las actividades lactásicas entre el grupo control y el experimental no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$) (gráfico).

DISCUSION

En 1976 *González y colaboradores*" encontraron que la administración a ratas de 5- fluoruracilo daba lugar a una disminución importante de las actividades maltásica y sacarásica, lo que se interpretó sobre la base de una reducción de la población de células cilindricas epiteliales de la mucosa intestinal, unida o no a una afectación de la síntesis (decremento) o la degradación (incremento) de las disacaridasas en cuestión, sobre todo durante la etapa de diferenciación y migración de los enterocitos según lo planteado por *Das y Gray* (1970):' A juicio de los autores los resultados obtenidos en este trabajo, en relación con las actividades de la maltasa y la sacarasa se podrían explicar basado en iguales planteamientos.

El carácter de no inducibilidad de la lactasa, o de una inducibilidad menos marcada que la maltasa y la sacarasa, explicarían, al menos en parte, los resultados obtenidos en relación con las mismas.

El hecho de que los valores encontrados de actividad lactásica fueran más bajos en los animales tratados con ciclofosfamida que en aquéllos que no lo fueron, estaría en relación con la disminu

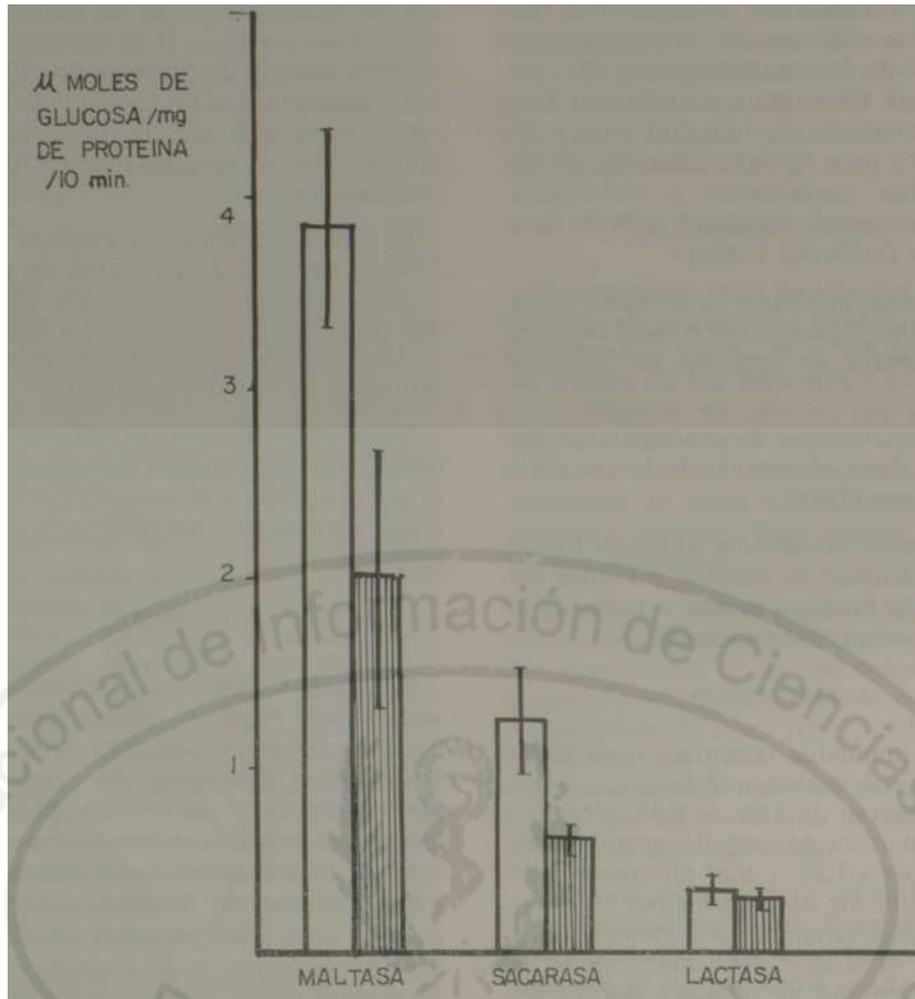


Gráfico. Actividad disacaridásica intestinal en animales no tratados y tratados con ciclofosfamida (barras rayadas). Obsérvese la notable disminución experimentada por la actividad maltásica en los animales que recibieron la administración del fármaco $\bar{x} \pm SD$.

ción de la población enterocitaria anteriormente citada.

Los efectos producidos por la administración de ciclofosfamida sobre la actividad

disacaridásica intestinal, pudieran explicar algunas de las reacciones colaterales que interesan al aparato digestivo de los individuos que reciben el referido fármaco como parte del tratamiento de la enfermedad cancerosa.

SUMMARY

González Pérez, T. L. et al. *The effects of cyclophosphamide on intestinal disaccharidase activity in rats.* Rev Cub Med 17: 1, 1978.

The intestinal disaccharidase (invertin, maltase and lactase) activity in rats treated with cyclophosphamide (1 - bis [2-chloroethyl]-amino-1-oxo-2-aza-oxaphosphoridin). Invertin activity and maltase activity decreased significantly while lactase activity decreased non-significantly.

González Pérez, T. L. et al. *Effets du cyclophosphamide sur l'activité disaccharidasique intestinale chez des rats.* Rev Cub Med 17: 1, 1978.

L'activité disaccharidasique Intestinale (invertase, maltase et lactase) est étudiée chez des rats traités avec cyclophosphamide N, N-bis-(béta-chlorure d'éthyle)-N, O-esterdiamide de l'acide phosphorique propylène, et on trouve que l'activité de l'invertase et de la maltase diminuent significativement, tandis que l'activité de la lactase subit une diminution qui n'est pas significative.

PS3.*1E

roncaJlec Ilpec, T.JI. n AP- X.oicTBMH mlKJloyocaafAU^a «a KH-
me^J-hyio iHcaxapJI.E.Hiilo aKTBHOCTB y Kpuc.itev Gab Mea 17sl» 1978.

MsyqaETCH KHme'qnaif JzllcaxapHUNan aKTBHOCTB (caxapo3a, Mii.oBTa- 3a, JlaKTosa) y
lcpuc, KOTopue ouJiif JIghilmu u,iiKJlocloc(¿aM.Iij;om « , - N -óMc-(óeTa - xJlophJl; aTHa)© , O-
scrcpuKaMMua nponmleHOBOH - (IOC\$ OpH0H kheJloth V odHapyKHBaETCH, hto aKTBHOCTB
caxapO3a H- MajIBTa3H 3Ha^IHTeJIBH0 nOHKCaETCH, B TO BpeMfi KaK aKTIIBHOCTB JlaK
To3H , ecm h HMeeT aeKOTopoe noiimen^e, Tak ohü He HBJineTCH ²
SHA^IHTeJIBHOM .

BIBLIOGRAFIA

1. *Gray, G. M.; Santiago, N. A.* Disaccharide absorption In the normal and diseased human intestine. *Gastroenterology* 51: 489, 1966.
2. *Johnson, Ch. F.* Hamster intestinal brush- border surface particles and their function. *Fed Proc* 28: 26, 1969.
3. *Ficholtz, A.* Structural and functional organization of the brush border of Intestinal epithelial cells. *Biochem Biophys Acta* 135: 473, 1967.
4. *Gray, G. M.* Carbohydrate digestion and absorption. *Gastroenterology* 58: 96, 1970.
5. *Das, B. C.; Gray, G. M.* Intestinal sucrase: in vivo synthesis and degradation. *Clin fles* 18: 378, 1970.
6. *Asp. N. G.* Human small intestinal beta galactosidases. *Biochem J* 121: 299, 1971.
7. *Leblond, C. P.; Stevens, C. E.* The constant renewal of the intestinal epithelium in the albino rats. *Anat Rec* 100: 357, 1948.
8. *Goodman, L. S.; Gilman, A.* The pharmacological basis of therapeutics. Third Edition, The Mc Millan Company. P. 1354-1355, 1963.
9. *Dahlqvist, .A.* Method for assay of Intestinal disaccharidases. *Analyt Biochem* 7: 18, 1964.
10. *Lowry, D. H. et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265, 1951.
11. *González, T. L. y otros.* Efectos del 5-fluoruracilo sobre la actividad disacaridásica Intestinal en ratas. Por publicar, 1976.