

Vaciamiento gástrico de líquidos en ratas sometidas a infarto del miocardio

Wilson Ranú Ramírez-Nuñez, Eros Antonio Almeida, Michiko Regina Ozaki, Adriana Mendes Vinagre, Edgard Ferro Collares, Gilberto D'assunção Fernandes

Acta Gastroenterol Latinoam 2006;36:33-37

Resumen

El vaciamiento gástrico (VG) es la transferencia del contenido gástrico al intestino delgado. Las alteraciones hemodinámicas modifican el VG y la actividad motora gastroduodenal. El infarto del miocardio (IM) es una condición patológica en la que hay alteraciones hemodinámicas. Siendo así, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del infarto agudo del miocardio sobre el vaciamiento gástrico de una comida líquida isosmótica e inerte desde el punto de vista calórico (solución salina). Fueron utilizadas ratas Wistar machos, con un peso de 220-250g, adaptados a condiciones de laboratorio y divididos en 3 grupos: grupo INF (N=17), ratas con infarto del miocardio por ligadura de la arteria coronaria descendiente anterior izquierda; grupo SH (N=15), Sham en las que fue simulado el proceso quirúrgico, sin ligadura de la arteria coronaria; grupo NA (N=15), ratas en las que no fue hecho ningún procedimiento de sedación o quirúrgico. Los animales, después de la constitución de los grupos, permanecieron en ayuno recibiendo agua *ad libitum*. Veinticuatro horas después fue evaluado el VG de 1,5 ml/100g de peso de animal de una comida de prueba (CP) salina marcada con fenol rojo. El VG fue evaluado indirectamente en los animales despiertos a través de la determinación del porcentaje de retención gástrica (RG) de la CP, 10 minutos después de administración de oro gástrico. Los resultados mostraron que los animales del grupo INF presentaron RG (media=48,0%) significativamente más alta con relación a los animales del gru-

po NA (30,6%,) y el grupo SH (36,6%). No hubo diferencia entre animales del grupo SH con relación a los del grupo NA. El área de infarto, expresada en porcentaje, en los animales del grupo INF fue de $51,3 \pm 4,7\%$ ($\bar{X} \pm SE$, N=17) y no presentó correlación con los resultados de RG del mismo grupo ($r=-0,05$). En conclusión, los resultados sugieren que el infarto agudo del miocardio en ratas induce retardo del VG de una comida líquida isotónica e inerte desde el punto de vista calórico.

Summary

Gastric emptying of liquids in rats subjected to acute myocardial infarction

Gastric Emptying (GE) is food transition from the stomach to the upper small intestine. Haemodynamics changes modify gastric emptying and the gastroduodenal motor activity. Myocardial Infarction is a pathological condition in which there are haemodynamics changes. Therefore, the objective of the present investigation was to study the effect of acute myocardial infarction on rat gastric emptying of an isosmotic and inert liquid meal. We conducted a study involving male Wistar rats (varying in body weight from 220g to 250g), that were allowed to habituate in a laboratory environment and then divided into 3 groups: group INF, rats in which the myocardial infarction was produced by left anterior coronary artery ligation; group SH, rats in which the myocardial infarction was simulated without ligating the anterior coronary artery; and group NA, rats which were not given any anesthesia or surgical procedures. After group constitution, animals were fasted with access to water *ad libitum*. 24 hours later, the Gastric Retention (GR) of 1.5 ml/100g animal weight of a test meal of 0.9% NaCl plus the marker phenol red was evaluated. GE was indirectly evaluated in conscious animals, through determining the percentage of gastric retention (%GR) of a test meal,

Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE), Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (FCM/Unicamp), São Paulo, Brasil.

Correspondencia: WR Ramírez-Nuñez
Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental,
Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, 13083-970 Campinas, SP, Brasil.
E-mail: ranuramirez@hotmail.com

measured 10 minutes after orogastric infusion. Results of the present study showed that animals from the INF group presented GR (median=48.0%), significantly higher than the NA group (30.6%) and SH group (36.6%). No statistical difference in GR was observed between the SH and NA groups. Infarcted area, expressed in percentages, in animals of the INF group was $51.3 \pm 4.7\%$ (mean SEM, N=17) which not presented correlation with results of GR of the same group ($r=-0.05$). From a caloric viewpoint, the results suggested that acute myocardial infarct in rats induce delay of the gastric emptying of an isosmotic and inert liquid meal.

Index (palabras claves): Gastric Emptying, Myocardial Infarction.

El vaciamiento gástrico (VG) consiste en la transferencia ordenada del contenido gástrico al intestino delgado. Este fenómeno resulta de la acción de mecanismos excitadores e inhibidores que controlan la actividad motora del estómago, píloro y duodeno.¹ Sobre las fibras musculares del estómago proximal, que presenta una actividad tónica, y del distal, que presenta una actividad fásica, actúa el sistema nervioso entérico.^{2,3} El sistema nervioso central participa del control del VG a través del nervio vago y del sistema nervioso simpático.² El complejo dorsal del vago está bajo influencia de estructuras más superiores como el núcleo paraventricular del hipotálamo, que en determinadas condiciones pueden modificar el VG.⁴⁻⁷

Una vez iniciado el VG, su modulación es hecha gracias a estímulos inhibidores, dependientes de las características físico-químicas del bolo alimenticio que actúa sobre receptores localizados en la mucosa del intestino delgado.^{1,8} Las comidas, prácticamente inertes en cuanto a este aspecto, como la solución salina fisiológica, tienen efecto mínimo sobre estos receptores.⁸

Son conocidas varias condiciones en que hay retardo o aceleración del VG.⁹ Las manifestaciones de la parte superior del aparato digestivo como náuseas y vómitos son síntomas frecuentes en el infarto agudo del miocardio.¹⁰ El infarto es la destrucción de la musculatura del miocardio, debido a la deficiencia del flujo sanguíneo para una región del músculo cardíaco, produciendo primero una isquemia, por falta de oxígeno con posterior necrosis de las células por falta de aporte nutritivo. Esta interrupción del flujo

coronario generalmente es consecuencia de la obstrucción de una arteria coronaria por ateroma o trombo.¹¹

El infarto del miocardio es una de las situaciones clínicas en que fueron observadas alteraciones hemodinámicas.¹² Por otro lado, hay evidencias que las alteraciones hemodinámicas, en condiciones experimentales, modifican la función motora del estómago y la velocidad del VG.¹³⁻¹⁵

Siendo así, el objetivo de este estudio fue evaluar, el efecto del infarto agudo del miocardio, inducido experimentalmente en ratas sobre el vaciamiento gástrico de una comida líquida inerte (salina).

Métodos

Fueron utilizadas ratas Wistar machos con 8 semanas de vida, que pesan entre 220-250 g, adaptados a las condiciones del laboratorio, con temperatura controlada (22-26 °C) y ciclo artificial de luz de 12 horas, recibiendo ración y agua *ad libitum*. El protocolo de estudio fue aprobado por la Comisión de Ética en Experimentación Animal de la Universidad Estadual de Campinas (Protocolo N° 340-1).

Los animales, después del ayuno alimenticio de 24 horas, recibiendo agua *ad libitum*, fueron divididos en 3 grupos: grupo INF, ratas infartadas en las que fue hecho el procedimiento de infarto del miocardio mediante la ligadura de la arteria coronaria descendente anterior izquierda; grupo SH, ratas Sham en las que fue simulado el procedimiento quirúrgico sin ligadura de las arterias coronarias; grupo NA, ratas Naive en las que no fue hecho ningún procedimiento de sedación o quirúrgico.

En la inducción del infarto del miocardio fue realizada la ligadura de la arteria coronaria descendente anterior izquierda utilizando la técnica descrita por Johns y Olson.¹⁶

Los animales de todos los grupos, después del procedimiento quirúrgico, permanecieron en ayuno alimenticio, recibiendo agua *ad libitum*. El VG fue evaluado veinticuatro horas después del procedimiento quirúrgico, entre 14-17 hs del día, siendo el acceso al agua suspendido una hora antes de la prueba. Como comida de prueba (CP) fue utilizado 1,5 ml/100 g de peso del animal de una solución de NaCl 0,9 % (p/v) marcada con fenol rojo (6 mg/dl). En todos los experimentos, la determinación del VG fue hecha indirectamente en ratas despiertas a través de la determinación del porcentaje de retención gás-

trica (RG) de la CP, 10 minutos después de su administración oro gástrica, utilizando la siguiente técnica protocolizada en el laboratorio:^{17,18}

- La CP fue introducida a través de una jeringa de vidrio (volumen máximo=5 ml), unida a un catéter de polietileno que, a su vez, fue conectado a una sonda metálica de 12 cm de largo y diámetro interno de 2,0 mm, que presenta en su extremidad distal una oliva agujereada.

- El volumen de la solución fue introducido por gravedad, en aproximadamente 10 segundos, con el animal en posición vertical.

- Después de administrada la solución, la sonda fue retirada y los animales permanecieron en jaulas por 8 minutos y 30 segundos. En este momento el animal fue colocado en una campana de vidrio con éter etílico por 30 a 40 segundos.

- Después de este período, fue colocada la sonda oro gástrica manteniéndose al animal anestesiado con inhalación de éter a través de un embudo.

- El abdomen fue abierto en sentido longitudinal y el píloro pinzado con pinza hemostática, 10 minutos después de la introducción de la CP por vía oro gástrica. Todas estas etapas fueron cronometradas.

- El residuo gástrico fue aspirado y seguidamente, se realizaron 5 lavados con 2 ml de agua destilada por vez. Tomando cuidado de aspirar siempre con la misma jeringa por observación directa de la viscera, se confirmó su total vaciamiento, la sonda fue retirada y el animal sacrificado.

- El líquido obtenido (residuo gástrico) más el líquido de lavado fueron transferidos a una probeta graduada de 25 ml y los instrumentos de aspiración (sonda y jeringa) fueron lavados 3 veces con 1 ml de agua por vez y con el volumen también añadido a la probeta.

- El volumen total obtenido fue anotado.

La determinación de la retención gástrica obedeció a los siguientes pasos:

- Fueron tomados, del volumen total recuperado, 2.0 ml y transferidos, en duplicado para balones volumétricos de 10 ml, a los cuales fueron añadidos 5,0 ml de solución de fosfato trisódico, en la concentración de 27,5 g/l, y completado el volumen con agua destilada.

- El mismo procedimiento fue realizado con 1 ml de comida de prueba. El volumen final de 10 ml fue completado con agua destilada. Las lecturas fueron hechas en un espectrofotómetro con lon-

gitud de onda de 560nm.

- Para el cálculo de la retención gástrica (RG) se utilizó la siguiente fórmula:

$$RG = \frac{vrg \times arg}{vvp \times arp \times 2} \times 100$$

Donde: vrg = volumen del residuo gástrico; arg = absorbancia del residuo gástrico; vvp= volumen de la comida de prueba; y arp = absorbancia de la comida de prueba.

Después de los experimentos, todos los animales fueron sacrificados. En el grupo INF los corazones fueron retirados y cortados en sentido sagital, teniendo como puntos referenciales la aurícula izquierda, el surco interventricular y la salida del ventrículo izquierdo. Enseguida, las dos mitades fueron fijadas en formol al 10% e incluidos en parafina. En los cortes histológicos, coloreados con hematoxilina-eosina, fue determinado el porcentaje del área de infarto con relación a toda el área del ventrículo izquierdo, utilizando la técnica protocolizada.¹⁹

Los resultados de la RG son presentados en $\bar{X} \pm ES$ y en el análisis estadístico fue empleado el test de *Anova*, seguido del test de *Tukey*. Para ambos tests fue establecido un $\alpha=0,05$. En el grupo INF fue calculado el coeficiente de correlaciones de pares ordenados (r) entre el área de infarto y los resultados de la RG.

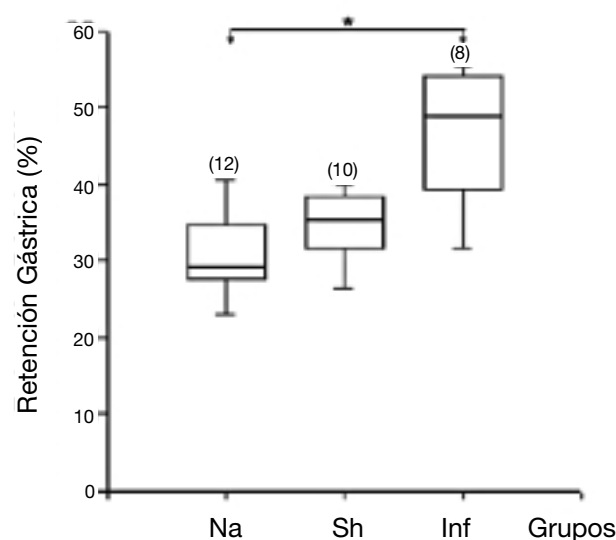
Resultados

Los resultados de las RG son presentados en la figura 1. Los intervalos de confianza del 95% fueron 38,4 % y 54,1 % para el grupo INF, 30,6 % y 38,1 % para el grupo SH, y 26,8 % y 35,1 % para el grupo NA.

Analizando los resultados, es posible observar que: 1) los valores de las RG del grupo INF son más elevados (media=48,0 %; N=17) y difieren significativamente ($p<0,05$) con relación a los animales del grupo SH (media=36,6 %; N=15) y con relación a los animales del grupo NA (media=30,6 %; N=15), respectivamente); 2) no hubo diferencia significativa de los animales del grupo SH (media=36,6%; N=15) con relación a los animales del grupo NA (media=30,6 %; N=15).

Los resultados, expresados en porcentaje y obtenidos del área de infarto en el grupo INF fueron de 51,3 % \pm 4,7 % ($\bar{X} \pm ES$, N=17). Estos valores no pre-

Figura 1 Valores de retención gástrica (%) presentados en $\bar{X} \pm ES$, de una comida de prueba salina, 10 minutos después de la administración orogástrica en ratas (INF), en ratas con infarto del miocardio mediante la ligadura de la arteria coronaria descendente anterior izquierda; ratas Sham (SH) en las que fue simulado el proceso quirúrgico sin ligadura de la arteria coronaria; ratas Naive (NA) en las que no fue hecho ningún procedimiento de sedación o quirúrgico. Los números entre paréntesis se refieren al número de animales en cada grupo (N).



* $p < 0,05$, test de Tukey

sentaron correlación con los de la RG de este grupo ($r = -0,05$), lo cual indica que no hubo vínculo directo entre el área de infarto y la retención gástrica.

Discusión

El conocimiento de las repercusiones del infarto sobre la motilidad gastroduodenal tiene importancia práctica para indicar, después del infarto agudo, el momento más adecuado para el inicio de la alimentación y la administración de medicamentos por vía oral.

La técnica de inducción de infarto experimental del miocardio en ratas descrita por Johns y Olson¹⁶ demostró ser práctica y eficiente, siendo adecuada a los objetivos del presente estudio. Dentro de los animales en los cuales la técnica fue probada originalmente, la rata fue aquella por nosotros escogida por adaptarse fácilmente a situaciones de agresión quirúrgica.¹⁶

Los resultados obtenidos mostraron que los animales del grupo INF presentan RG significativamente más elevada con relación al grupo NA y con relación al grupo SH. Por otro lado, no fueron observadas diferencias significativas en la comparación de los resultados de la RG entre los grupos SH y NA.

En el infarto agudo del miocardio ocurren alteraciones hemodinámicas (hipertensión arterial pulmonar, variaciones de presión sistólica) y neurohormonales (aumento de la concentración de angiotensina II y catecolamina, entre otros), que empeoran el desempeño cardíaco, las cuales están directamente relacionadas al tamaño del infarto.^{23,24}

Como es conocido que las alteraciones hemodinámicas agudas pueden interferir en el VG¹³⁻¹⁵, es tentador especular que ésta sea responsable del efecto sobre el VG. Camurça y col,²⁵ concluyeron que el infarto agudo del miocardio en ratas inhibe el VG de una comida líquida y que el fenómeno presenta una correlación positiva con el área de infarto, así que en el estudio fueron observados también hipotensión arterial y aumento de la presión venosa central. Los autores proponen como posible mecanismo para la inhibición del VG el aumento de la actividad simpática (que cuando es activada inhibe la motilidad gástrica) como consecuencia de las alteraciones hemodinámicas en el infarto agudo.²⁵

En el presente estudio los infartos obtenidos fueron grandes (área media de 51,3% del ventrículo izquierdo) sin correlación entre el área de infarto y la retención gástrica. Estos resultados se contraponen a los obtenidos por aquellos autores.

El *stress* de cualquier naturaleza estimula varias respuestas hormonales adaptables, particularmente en las primeras 72 horas, entre ellas una descarga de epinefrina y norepinefrina en la corriente sanguínea.²¹ Aunque los procedimientos quirúrgicos y anestésico, sin obstrucción de la coronaria, no interfirieron significativamente en el VG, los resultados de la retención gástrica en los animales Sham (media = 36,6%) fueron más elevados que en el grupo Naive (media = 30,62%), sugiriendo que el *stress* quirúrgico y anestésico puede haber interferido por lo menos discretamente en el vaciamiento gástrico. De modo que el procedimiento quirúrgico es una de las condiciones que indujeron el *stress*.^{20,21} Por otro lado, es conocido que en ratas el *stress* agudo induce retardo del VG.^{6,22} De esta forma es razonable suponer

que en el grupo INF fue necesaria la interacción de los procedimientos (anestesia + cirugía) con el infarto agudo para que produzca la disminución del VG. Este fenómeno puede ser interpretado como ocurrencia de *stress* aditivo anestesia + cirugía + infarto, condiciones que separadamente son capaces de inducirlo.^{20,21} Sería necesario planear estudios para evaluar la contribución de cada uno de estos factores en el retardo del vaciamento gástrico observado en el infarto agudo del miocardio.

En conclusión, los resultados del presente estudio sugieren que el infarto agudo del miocardio en ratas induce, sin correlación con el área de infarto, retardo del VG de una comida líquida isotónica e inerte desde el punto de vista calórico.

Este estudio recibió el apoyo financiero de Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Cnpq).

Referencia

- Hunt JN. Mechanisms and disorders of gastric emptying. *Annu Rev Med* 1983;34:219-229.
- Burks TF, Galligan JJ, Porreca F, Barber WD. Regulation of gastric emptying. *Fed Proc* 1985;44:2897-2901.
- Weisbrodt NW. Gastric emptying. In: Johnson LR, Eds. *Gastrointestinal physiology*. St Louis, Louisiana; 1997, p 33-42.
- Sakaguchi T, Ohtake M. Inhibition of gastric motility induced by activation of the hypothalamic paraventricular nucleus. *Brain Res* 1985;335:365-367.
- Mönnikes H, Schmidt BG, Raybould HE, Taché Y. CRF in the paraventricular nucleus mediates gastric and colonic response to restraint stress. *Am J Physiol* 1992;262:137-143.
- Collares-Buzato CB, Collares EF, Fernandes GA. Effect of paraventricular nucleus lesion and cold restraint stress on gastric emptying of a liquid meal in rats. *Braz J Med Biol Res* 1993;26:1009-1014.
- Azpiroz F. Control of gastric emptying by gastric tone. *Dig Dis Sci* 1994;39:18-19.
- Ehrlein HJ, Akkermans LMA. Gastric emptying. In: Akkermans LMA; Johnson AG, Read NW, eds. *Gastric and Gastrointestinal Motility*. Surgical Science, Serie 4, New York; 1984,74-84.
- Camilleri M, Malagelada JR. Gastric motility in disease. In: Akkermans LMA, Johnson AG & Read, NW, eds. *Gastric and Gastrointestinal Motility*. Surgical Science, Series 4, New York; 1984,201-232.
- Alpert JS, Thygesen K. Myocardial infarction redefined. *Eur Heart J* 2000;21:1502-1513.
- Fuster V, Lewis AC. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation* 1994;90:2126-2146.
- Conhen RA, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarization beyond nitric oxide and cyclic GMP. *Circulation* 1995;92:3337-3349.
- Graça JRV, Gondim Fde-AA, Cavalcante DIM, Xavier-Neto J, Messias ELM, Rego MCV, Marques JAP, Santos AA, Rola FH. Gastrointestinal resistance and neural mechanisms involved in saline flow decrease elicited by acute blood volume expansion in anesthetized rats. *Braz J Med Biol Res* 1997;30:1257-1266.
- Gondim Fde-AA, de-Oliveira GR, Graça JRV, Cavalcante DIM, Sousa MAN, Santos AA, Rola FH. Variation in gastric emptying of liquid elicited by acute blood volume changes in awake rats. *Braz J Med Biol Res* 1998;31:967-973.
- Graça JRV, Leal PRL, Gondim Fde-AA, Rola FH, Santos AA. Variations in gastric compliance induced by acute blood volume changes in anesthetized rats. *Braz J Med Biol Res* 2002;35:405-410.
- Johns JNP, Olson BJ. Experimental myocardial infarction. *Ann Surg* 1954;140:675-680.
- Belangero VMS, Collares EF. Esvaziamento gástrico e acidose metabólica. I. estudo de um modelo experimental em ratos, empregando uma solução de cloreto de amônio por via orogastrica. *Arq Gastroenterol* 1991;28:145-150.
- Bucarechi F, Collares EF. Effect of Phoneutria nigriventer spider venom on gastric emptying in rats. *Braz J Med Biol Res* 1996;29:205-211.
- Van Royen N, Hoefer I, Buschmann I, Kostin S, Voskuil M, Bode CH, Schaper W, Piek JJ. Effects of local MCP-1 protein therapy on the development of the collateral circulation and atherosclerosis in Watanabe hyperlipidemic rabbits. *Cardiovas Res* 2003;57:178-185.
- Rocha B. The effects of stress in normal and adrenalectomized mice. *Eur J Immunol* 1985;15:1131-1135.
- Axelrod J, Reisine TD. Stress hormones: Their interaction and regulation. *Science* 1984;224:452-459.
- Lenz HJ, Raedler A, Gretten H, Vale WW, Rivier JE. Stress-induced gastrointestinal secretory and motor responses in rats are mediated by endogenous corticotrophin-releasing factor. *Gastroenterology* 1988;95:1510-1517.
- Zornoff L, Paiva S, Matsubara B, Matsubara L, Tucci P, Spadaro J. Efeito do Lisinopril sobre parâmetros cardíacos e mortalidade no infarto experimental em ratos. *Arq Bras Cardiol* 1997;68:175-179.
- Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC. Myocardial infarct size and ventricular functions in rats. *Circ Res* 1979;44:503-512.
- Camurça FD, de Queiroz DAF, Leal PRL, Rodrigues CL, Gondim FAA, Graça JRV, Rola FH, Souza MAN, Santos AA. Gastric emptying and gastrointestinal transit of liquid in awake rats is delayed after acute myocardial infarction. *Dig Dis Sci* 2004;49:757-762.