



# BASES ESTRUTURAIS DAS ALTERAÇÕES DA MOTILIDADE GASTRINTESTINAL NA DOENÇA DE PARKINSON: ESTUDO EM RATOS

*Structural bases of gastrointestinal motility changes in Parkinson's disease: study in rats*

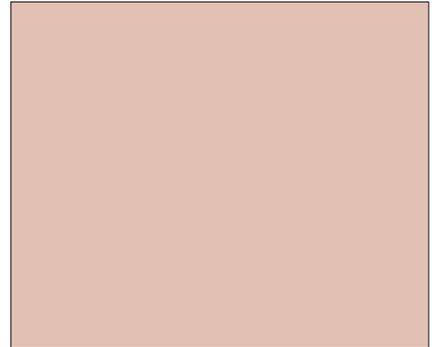
José Cirilano Sousa **ALBUQUERQUE**<sup>1</sup>®, Tiago Santos **MENDES**<sup>2</sup>®, Maria Girlane Sousa Albuquerque **BRANDÃO**<sup>3</sup>®, Annyta Fernandes **FROTA**<sup>4</sup>®, Thomas Dominik de Souza dos **REIS**<sup>1</sup>®, Lissiana Magna Vasconcelos **AGUIAR**<sup>1</sup>®, José Ronaldo Vasconcelos da **GRAÇA**<sup>1</sup>®

**RESUMO - Racional:** Distúrbios gastrointestinais são frequentemente relatados em pacientes com doença de Parkinson cujos distúrbios reduzem a absorção de nutrientes e fármacos, agravando o quadro clínico dos pacientes. No entanto, os mecanismos envolvidos na alteração da fisiopatologia gastrointestinal ainda não foram totalmente elucidados. **Objetivo:** Avaliar os seus efeitos sobre a motilidade gastrointestinal e o envolvimento das vias vagal e esplâncnica. **Métodos:** Ratos Wistar machos (250–300 g, n=84) foram utilizados e divididos em dois grupos. O grupo I (6-OHDA) recebeu injeção intraestriatal de 6-hidroxi dopamina (21 µg/animal). O grupo II (controle) recebeu solução salina (NaCl, 0,9%) nas mesmas condições. O estudo do esvaziamento gástrico, trânsito intestinal, complacência gástrica e operações (vagotomia e esplanctomia) foram realizadas 14 dias após a indução da neurodegeneração. Refeição teste (vermelho de fenol+glicose 5%) foi utilizada para avaliar a taxa de esvaziamento gástrico e o trânsito intestinal. **Resultados:** A doença de Parkinson retardou o esvaziamento gástrico e o trânsito intestinal em todos os tempos estudados; porém, alterações da complacência gástrica não foram observadas. O retardo do esvaziamento gástrico foi revertido por pré-tratamento com vagotomia e esplanctomia+gangliectomia celiaca, sugerindo assim, o envolvimento de tais vias nos distúrbios motores observados. **Conclusão:** A doença de Parkinson compromete o esvaziamento gástrico, bem como o trânsito intestinal, mas não altera a complacência gástrica. O retardo do esvaziamento gástrico foi revertido pela vagotomia troncular, esplanctomia e gangliectomia celiaca, sugerindo o envolvimento de tais vias no retardo do esvaziamento gástrico.

**DESCRIPTORES:** Neurodegeneração. 6-Hidroxi dopamina. Fisiopatologia. Constipação. Vagotomia.

**ABSTRACT - Background:** Gastrointestinal disorders are frequently reported in patients with Parkinson's disease whose disorders reduce the absorption of nutrients and drugs, worsening the clinical condition of patients. However, the mechanisms involved in modifying gastrointestinal pathophysiology have not yet been fully explained. **Aim:** To evaluate its effects on gastrointestinal motility and the involvement of the vagal and splanchnic pathways. **Methods:** Male Wistar rats (250–300 g, n = 84) were used and divided into two groups. Group I (6-OHDA) received an intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine (21 µg/animal). Group II (control) received a saline solution (NaCl, 0.9%) under the same conditions. The study of gastric emptying, intestinal transit, gastric compliance and operations (vagotomy and splanchnotomy) were performed 14 days after inducing neurodegeneration. Test meal (phenol red 5% glucose) was used to assess the rate of gastric emptying and intestinal transit. **Results:** Parkinson's disease delayed gastric emptying and intestinal transit at all time periods studied; however, changes in gastric compliance were not observed. The delay in gastric emptying was reversed by pretreatment with vagotomy and splanchnotomy+celiac gangliectomy, thus suggesting the involvement of such pathways in the observed motor disorders. **Conclusion:** Parkinson's disease compromises gastric emptying, as well as intestinal transit, but does not alter gastric compliance. The delay in gastric emptying was reversed by truncal vagotomy, splanchnotomy and celiac ganglionectomy, suggesting the involvement of such pathways in delaying gastric emptying.

**DESCRIPTORS:** Neurodegeneration. 6-Hydroxydopamine. Pathophysiology. Constipation. Vagotomy.



## Mensagem central

Retardo do esvaziamento gastrointestinal em animais submetidos ao modelo de doença Parkinson induzida está associado ao comprometimento das vias vagal e esplâncnica.

## Perspectivas

O retardo do esvaziamento gastrointestinal em pacientes com doença de Parkinson afeta a absorção de nutrientes e a biodisponibilidade de fármacos. Portanto, os resultados obtidos neste estudo sugerem a busca de vias de administração farmacológicas alternativas, visando o aumento da eficácia medicamentosa.



[www.facebook.com/abcdrevista](http://www.facebook.com/abcdrevista)



[www.instagram.com/abcdrevista](http://www.instagram.com/abcdrevista)



[www.twitter.com/abcdrevista](http://www.twitter.com/abcdrevista)

Trabalho realizado no <sup>1</sup>Laboratório de Fisiologia e Neurociência do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Faculdade de Medicina, Sobral, CE, Brasil; <sup>2</sup>Centro universitário UNINTA, Sobral, CE, Brasil; <sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Universidade Luso Afro-Brasileiro, Campus de Redenção, CE, Brasil; <sup>4</sup>Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza, CE, Brasil

Como citar esse artigo: Albuquerque JCS, Mendes TS, Brandão MGSA, Frota AF, dos-Reis TDS, Aguiar LMV, da-Graça JRV. Bases estruturais das alterações da motilidade gastrointestinal na doença de Parkinson: estudo em ratos. ABCD Arq Bras Cir Dig. 2020;33(3):e1548. DOI: /10.1590/0102-672020200003e1548

## Correspondência:

José Cirilano Sousa Albuquerque  
E-mail: [cirilanoalbuquerque@hotmail.com](mailto:cirilanoalbuquerque@hotmail.com)

Financiamento: O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Conflito de interesse: não há  
Recebido para publicação: 05/03/2020  
Aceito para publicação: 12/07/2020

## INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais prevalente no mundo, afetando 1% da população com idade superior a 55 anos<sup>16</sup>. Estima-se que ela poderá afetar mais de 10 milhões em todo o mundo até 2030<sup>10</sup>. A sua principal característica neuropatológica é a lesão dos neurônios dopaminérgicos que reduz os níveis de dopamina no estriado, além do aparecimento dos corpos de Lewy, compostos pelo acúmulo das proteínas  $\alpha$ -sinucleína e ubiquitina<sup>7,2</sup>. A lesão dos neurônios dopaminérgicos afeta drasticamente diversas regiões do encéfalo, mesencéfalo, tronco cerebral, tubérculo olfatório, córtex cerebral e elementos do sistema nervoso periférico<sup>3</sup>.

Os principais sintomas da DP são: tremores, rigidez e bradicinesia; porém, outros surgem durante a progressão da doença, tais como a instabilidade postural, disfunção autonômica, déficits cognitivos, distúrbios psiquiátricos, perdas sensoriais e distúrbios do sono<sup>6</sup>. Distúrbios gastrointestinais - constipação, dificuldade de mastigação, retardo do esvaziamento gástrico, boca seca ou excesso de salivação, disfagia e refluxo gastresofágico - são relatados em aproximadamente 70% dos pacientes<sup>4</sup>. Redução da taxa de esvaziamento gastrointestinal afeta a absorção da levodopa, causando flutuações dos sintomas motores, reduzindo a qualidade de vida dos pacientes<sup>8</sup>. Além disso, estudos clínicos recentes mostraram que 40-60% de pessoas com gastroparesia também têm crescimento excessivo de bactérias do intestino delgado<sup>11</sup>.

A motilidade gastrointestinal é controlada por mecanismos coordenados tanto no sistema nervoso central quanto pelo entérico<sup>2,11</sup>. Estudos realizados com modelos animais sugerem que o retardo do esvaziamento gastrointestinal pode estar associado ao comprometimento das vias vagal e esplâncnica. No entanto, os mecanismos da fisiopatologia do eixo cérebro-intestino na DP ainda não foram completamente elucidados<sup>14</sup>.

Entre os diversos modelos experimentais de neurodegeneração induzida por injeção unilateral de 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA) em animais é um dos mais utilizados, capaz de fornecer informações importantes para a elucidação do entendimento da fisiopatologia da doença possibilitando o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas<sup>5</sup>.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da DP sobre a motilidade gastrointestinal e o envolvimento de vias vagal e esplâncnica em ratos.

## MÉTODOS

### Animais e aspectos éticos

Ratos Wistar machos (250-300 g, n=84) provenientes do biotério central da Universidade Federal do Ceará foram mantidos em uma sala com condições ambientais controladas (25±1° C, umidade 60±5%, ciclo claro/escuro de 12/12 h) com livre acesso à água e alimentos (comida de rato Nuvital Nuvilab CR1-Nuvital Nutrientes S/A, Brasil). Todos os experimentos foram realizados de acordo com o guia de Princípios Éticos para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório, proposto pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório após aprovação do comitê de ética local (protocolo n° 40/2015). Todos os esforços foram feitos para minimizar o número e o sofrimentos dos animais.

### Indução da neurodegeneração

Inicialmente os animais foram divididos em dois grupos (n=6), anestesiados com Ketamina (100 mg/kg, i.p.) e xilazina (5 mg/kg, i.p.), seguida de operação estereotáxica. O grupo I (6-OHDA) recebeu injeção intraestriatal unilateral de 6-OHDA (20 µg/animal) no lado ipsilateral. O grupo II (controle) recebeu solução salina (NaCl, 0,9%) nas mesmas condições. A injeção intraestriatal unilateral de 6-OHDA ou salina foi realizada através de uma seringa Hamilton® de 6 µL utilizando aparelho estereotáxico (Stoelting,

EUA) nas seguintes coordenadas (mm): sítio 1: L: - 2,5, AP: + 0,5, V: + 5,0; Local 2: L: - 3, AP: - 0,5, V: + 6,0; e local 3: L: - 3,7, AP: - 0,9, V: + 6,5 do bregma, de acordo com o Atlas de Paxinos e Watson<sup>1</sup>.

### Avaliação do comportamento rotacional

O comportamento rotacional foi avaliado através do monitoramento das rotações induzidas pela apomorfina (3 mg/kg i.p.) que induz o animal a um comportamento rotacional na direção contrária a lesão (lado contralateral). O número de rotações (360°) em volta do próprio eixo foi contabilizado a cada 10 min durante período total de 60 min<sup>17</sup>.

### Avaliação do esvaziamento gástrico

O estudo do esvaziamento gástrico foi realizado 14 dias após a operação de indução da neurodegeneração. Após 12 h de jejum, os animais foram alimentados (via gavagem) com 1,5 ml de refeição teste líquida contendo um marcador não absorvível (0,5 mg/ml de vermelho de fenol em solução de glicose a 5%). Decorridos 10, 20 ou 30 min, os ratos foram sacrificados por deslocamento cervical e o intestino foi exposto por laparotomia, fixado no piloro, cárdia e junção ileocecal e depois removido. O intestino foi cuidadosamente esticado do estômago para o cólon e dividido em quatro segmentos consecutivos: estômago, intestino delgado proximal (primeiros 40%), intestino delgado medial (intermediário 30%) e intestino delgado distal (últimos 30%). Cada segmento foi colocado em cilindros graduados contendo 100 ml de NaOH 0,1 N. Após serem triturados e homogeneizados durante 30 s, deixou-se a suspensão sedimentar durante 20 min à temperatura ambiente. O sobrenadante (10 ml) foi centrifugado por 10 min a 2800 rpm e as proteínas em contidas 5 ml do homogeneizado foram precipitadas após adição de 0,5 ml de ácido tricloroacético (20% p/v). Após centrifugação durante 20 min a 2800 rpm, adicionou-se 3 ml do sobrenadante a 4 ml de NaOH 0,5 N. Uma curva de diluição padrão foi gerada para relacionar a concentração de vermelho de fenol em NaOH 0,1 N com a absorvância (560 nm) obtida em cada segmento<sup>9,15</sup>. A recuperação fracionada de corante gástrico foi determinada de acordo com a seguinte equação: % recuperação gástrica = quantidade de vermelho de fenol recuperada no estômago/quantidade total de vermelho de fenol recuperada de todos os quatro segmentos × 100.

### Avaliação do trânsito intestinal

Após anestesia com Ketamina (100 mg/kg, i.p.) e xilazina (5 mg/kg, i.p.), os animais foram submetidos à laparotomia e uma cânula foi inserida no intestino. A ponta dela foi avançada para o duodeno 1 cm distal ao piloro e fixada na parede do estômago; sua extremidade livre foi canalizada por via subcutânea, exteriorizada e fixada à pele. Decorridos dois dias, os animais foram alimentados (gavagem) com a refeição líquida de teste (1 ml) através da cânula duodenal e foram sacrificados 20 min depois. Após a exérese, o intestino foi cuidadosamente esticado e removido. Ligaduras obstrutivas foram realizadas para obter cinco segmentos consecutivos do intestino delgado (~20 cm de comprimento). Cada segmento foi homogeneizado e o teor de corante foi determinado por espectrofotometria. Os dados obtidos para cada segmento individual foram multiplicados pelo número total de segmentos e somados para calcular o centro geométrico da distribuição do marcador por todo o intestino<sup>9,15</sup>.

### Avaliação da complacência gástrica

Para avaliar os efeitos da DP sobre a complacência gástrica, utilizou-se sistema de barostato associado a pletismômetro. Decorridos 14 dias da operação de indução da neurodegeneração, os animais foram anestesiados com uretana (1,2 g/kg i.p.) seguido de traqueostomia. Um cateter de balão (~4 ml) feito com as pontas dos dedos das luvas cirúrgicas foi inserido por via oral e posicionado no estômago dos ratos. A extremidade livre foi conectada a reservatório de vidro (2,5 cm de diâmetro interno, 30 ml de volume), criando um sistema de vasos comunicantes preenchido com solução iônica padrão (45 mg% NaCl e 0,3 ml%

de Imbeiente, BBC Ornano, Comerio, Itália) a 37° C. Assim, as alterações no volume do reservatório, exibidas pelo pletismômetro (modelo 7140, Ugo Basille, Comerio, Itália) foram consideradas como volume gástrico. Após o equilíbrio do sistema, o estômago foi progressivamente distendido, aumentando o nível de líquido do reservatório 4, 8 e 12 cm acima do apêndice xifoide do rato a cada 10 min. O volume gástrico foi registrado a cada 1 min e reunido em intervalos consecutivos de 10 min<sup>13</sup>.

#### Estudo do envolvimento de vias neuroautonômicas

Os animais foram inicialmente mantidos em jejum durante 24 h, com livre acesso a água. Após anestesia com Ketamina (100 mg/kg, i.p.) e xilazina (5 mg/kg, i.p.) ambos os grupos foram submetidos à laparotomia mediana. Os animais do grupo vagotomia troncular foram submetidos à secção do nervo vago por meio de serotomia do esôfago ~1,5 cm acima da cárdia. Por outro lado, os do grupo esplanctomia+gangliectomia celiaca foram submetidos à laparotomia mediana com exposição das vísceras abdominais e do tronco celiaco. Em seguida, foi realizada a secção do gânglio celiaco e dos nervos esplâncnicos, seguida da instilação de álcool a 100%<sup>9,13</sup>. Decorridos dois dias, aplicou-se o protocolo de esvaziamento gástrico.

#### Análise estatística

Os gráficos e análises estatísticas dos resultados, foram realizados utilizando o software Prisma® versão 5.01 (GraphPad, San Diego, USA). Os resultados do esvaziamento gástrico e trânsito intestinal foram apresentados na forma de histograma representativos das médias±EPM. As diferenças estatísticas entre as médias foram analisadas pelo teste "t" de Student. Os resultados da complacência gástrica, foram apresentados na forma de gráfico box e whiskers plots. As diferenças estatísticas das médias obtidas nos diferentes grupos de animais no estudo das vias vagal e esplâncnica foram analisados por ANOVA seguida do teste Bonferroni. Foram considerados estatisticamente significativos, os valores de  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

Rotações do animal em torno do próprio eixo no lado contrário a lesão, induzidas por apomorfina, refletem a hipersensibilidade e a gravidade dos danos das lesões intraestriatais produzidas pela injeção de 6-OHDA<sup>17</sup>. No presente estudo, a média das rotações contralaterais contabilizadas durante teste rotacional (60 min) nos animais do grupo controle foi 11,17±3,38, enquanto no grupo 6-OHDA foi 358,32±25,55.

A retenção da refeição teste pelo estômago dos animais do grupo 6-OHDA 10 min pós-prandial foi 24,85% maior em relação ao grupo controle, cujas médias das retenções de corante foram 53,40±2,80 vs. 42,77±2,65, respectivamente. A retenção de corante na porção proximal do intestino delgado dos animais do grupo 6-OHDA foi 18,21% menor em relação aos do grupo controle, cujas médias das retenções de corante foram 29,19±1,95 e 35,69±1,31, respectivamente (Figura 2 A).

A retenção da refeição teste pelo estômago dos animais do grupo 6-OHDA 20 min pós-prandial foi 31,52% (33,50±2,53 vs. 44,06±2,23) maior em relação ao grupo controle. Na porção proximal do intestino delgado dos animais do grupo 6-OHDA houve diminuição de 32,68% (26,74±1,65 vs. 18,00±2,55) da retenção de corante quando comparada aos animais do grupo controle (Figura 2 B).

A retenção da refeição teste pelo estômago dos animais do grupo 6-OHDA 30 min pós-prandial foi 33,04% (27,72±1,96 vs. 36,88±2,19) maior em relação ao grupo controle. Na porção proximal do intestino delgado dos animais do grupo 6-OHDA houve diminuição de 61,86% (22,89±1,03 vs. 8,73±1,76) da retenção de corante quando comparada aos animais do grupo controle (Figura 2 C).

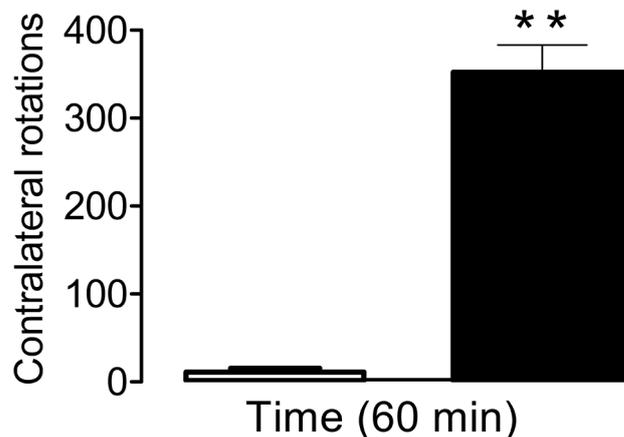


FIGURA 1 - Rotações contralaterais (lado contrário à lesão) induzidas por apomorfina (3 mg/kg) 13 dias após operação de indução da neurodegeneração. No gráfico, a barra branca (□) representa o número de rotações contralaterais dos animais do grupo controle (NaCl, 0,9%) e a barra preta (■) representa o grupo experimental (6-OHDA). As linhas verticais acima de cada barra indicam o erro-padrão da média. Foram considerados sensíveis ao modelo de indução da neurodegeneração, os animais cujo número de rotações contralaterais foi > 150 em 60 min.

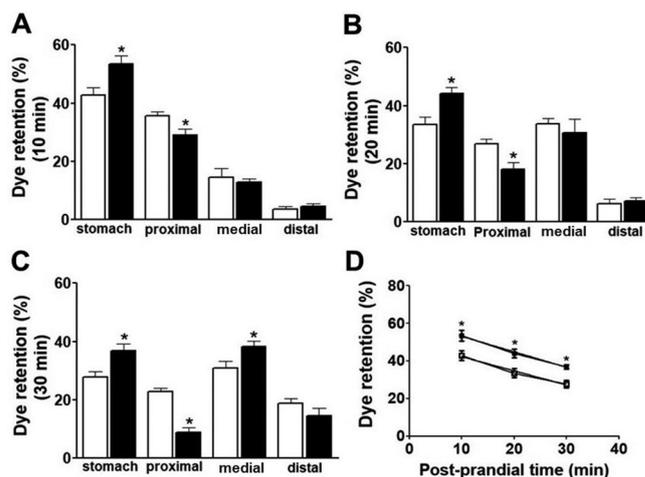


FIGURA 2 - Retenção da refeição teste (vermelho de fenol+glicose a 5%) no estômago e intestino delgado (proximal, medial e distal) dos animais submetidos ao modelo de indução da neurodegeneração. Nos gráficos, as barras brancas (□) representam os valores da retenção da refeição teste em cada porção do trato gastrointestinal dos animais do grupo controle (NaCl, 0,9%) e as barras pretas (■) representam o grupo experimental (6-OHDA). A retenção da refeição teste 10, 20 e 30 min pós-prandial estão representadas nas Figuras A, B e C respectivamente. A Figura D estuda a curva de esvaziamento gástrico 10, 20 e 30 min pós-prandial.

O número de bolos fecais liberados pelos animais do grupo experimental (6-OHDA) foi 6,571±1,88, enquanto o controle (NaCl 0,9%) foi 16,03±0,72 (Figura 3).

Houve atraso de 44,80% do centro de massa da refeição teste nos animais do grupo 6-OHDA em relação aos do grupo controle. Quando nos animais do grupo 6-OHDA, o centro de massa foi observado entre os segmentos 2 e 3 (2,95±0,32) do intestino delgado, enquanto nos do grupo controle (NaCl 0,9%) foi entre os segmentos 4 e 5 (4,27±0,22, Figura 4 A).

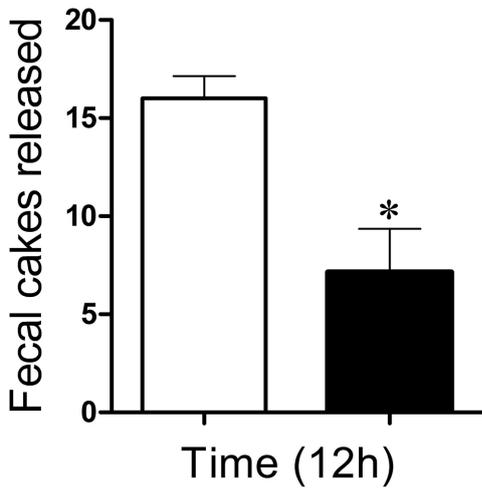


FIGURA 3 - Número de bolos fecais eliminados pelos animais submetidos ao modelo de indução da doença de Parkinson durante 12 h. A barra branca (□) representa o número de bolos fecais eliminados pelos animais do grupo controle (NaCl, 0,9%) e as barras pretas (■) representam o grupo experimental (6-OHDA).

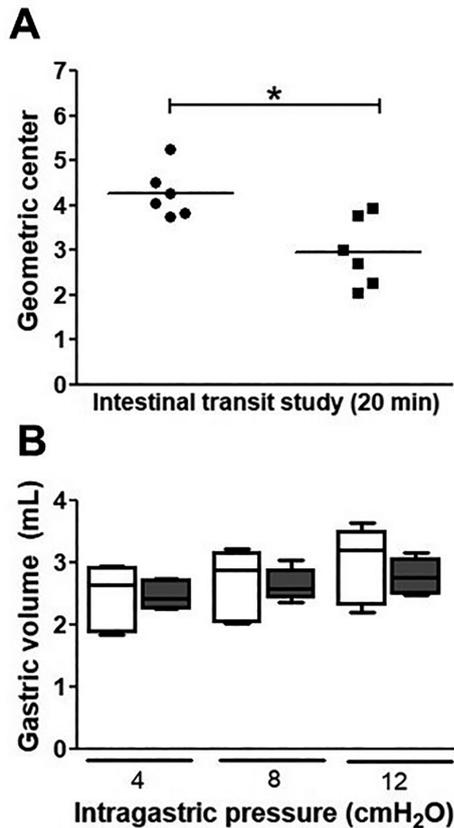


FIGURA 4 - Avaliação do trânsito intestinal e complacência gástrica: A) Centro geométrico da refeição teste 20 min pós-prandial, onde os círculos (●) representam a média dos valores da retenção da refeição teste no trato gastrointestinal dos animais do grupo controle e os quadrados (■) do grupo experimental (6-OHDA); B) volume gástrico dos animais em diferentes pressões intragástricas (4, 8 e 12 cm H<sub>2</sub>O). As caixas brancas (□) representam os animais do grupo controle (NaCl, 0,9%) e as caixas pretas (■) o grupo experimental (6-OHDA). As linhas horizontal, inferior e superior representam a mediana, menor e o maior valor obtidos, respectivamente, durante 10 min de monitorização.

Os valores das pressões intragástricas nos animais do grupo 6-OHDA e controle foram 2,44±0,24 vs. 2,46±0,08 ml (4 cmH<sub>2</sub>O); 2,64±0,26 vs. 2,63±0,11 ml (8 cm H<sub>2</sub>O) e 2,96±0,27 vs. 2,77±0,11 ml (12 cm H<sub>2</sub>O), respectivamente. Desta forma, os valores de volume gástrico dos animais dos grupos 6-OHDA e controle não apresentaram diferenças estatísticas significativas, p<0,05 (Figura 4 B).

O pré-tratamento cirúrgico com vagotomia troncular não alterou (p>0,05) a retenção gástrica de líquido, quando os resultados dos animais do grupo salina vagotomizado e grupo 6-OHDA vagotomizado (34,40±1,740 vs. 34,30±2,764) foram comparados entre si. Observou-se ainda que o pré-tratamento com vagotomia acelerou o esvaziamento gástrico (44,78±1,380 vs. 34,30±2,764), quando o grupo 6-OHDA foi comparado com o grupo 6-OHDA vagotomizado. Por outro lado, a vagotomia não alterou a retenção de líquidos nos intestinos proximal, medial e distal, respectivamente (Figura 5A).

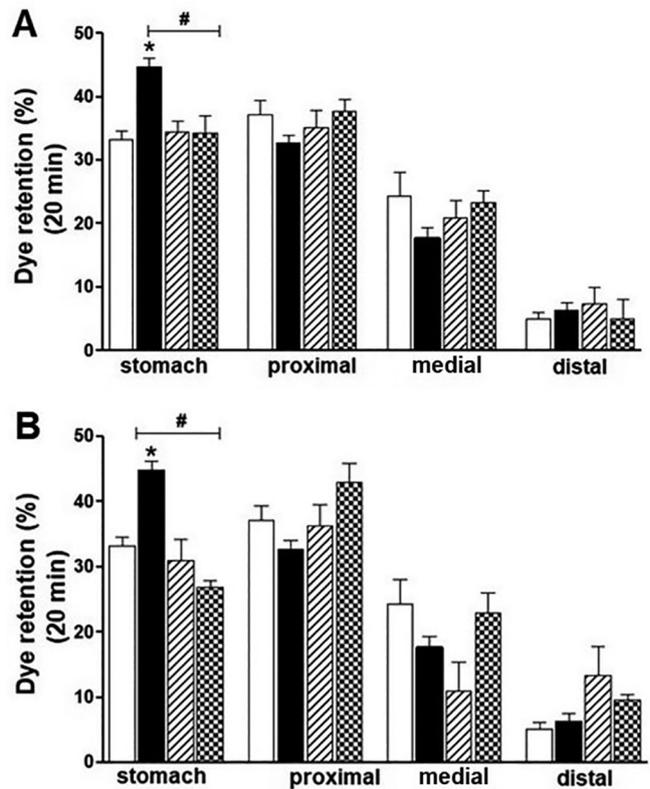


FIGURA 5 - Efeitos dos pré-tratamentos cirúrgicos com vagotomia e esplanctomia sobre o esvaziamento gástrico nos animais submetidos ao modelo de neurodegeneração induzida por 6-OHDA: A) as barras brancas (□) representam a retenção da refeição teste em cada porção do trato gastrointestinal dos animais do grupo controle (NaCl, 0,9%), as barras pretas (■) representam o grupo experimental (6-OHDA), as barras com linhas diagonais representam o grupo controle pré-tratado com vagotomia troncular (NaCl+VGt) e as barras pontilhadas representam o grupo experimental pré-tratado com vagotomia troncular (6-OHDA+VGt); B) as barras brancas (□) representam a retenção da refeição teste em cada porção do trato gastrointestinal dos animais do grupo controle (NaCl, 0,9%), as barras pretas (■) representam o grupo experimental (6-OHDA), as barras com linhas diagonais representam o grupo controle pré-tratado com esplanctomia+gangliectomia celiaca (NaCl, 0,9%+EGc) e as barras pontilhadas representam o grupo experimental pré-tratado com esplanctomia+gangliectomia celiaca (6-OHDA + EGc).

Opré-tratamentocirúrgicocomesplanctomia+gangliectomia celiaca (EGc), não alterou ( $p>0,05$ ) os resultados da retenção gástrica de líquido nos animais dos grupos salina esplanctomizado e 6-OHDA esplanctomizado ( $30,94\pm 1,740$  vs.  $26,30\pm 2,764$ ). A esplanctomia+gangliectomia celiaca acelerou o esvaziamento gástrico ( $44,78\pm 1,380$  vs.  $26,30\pm 2,764$ ) do grupo 6-OHDA esplanctomizado em relação ao grupo 6-OHDA não esplanctomizado. Por outro lado, a esplanctomia+gangliectomia celiaca não alterou significativamente a retenção de líquidos nos intestinos proximal, medial e distal, respectivamente (Figura 5B).

## DISCUSSÃO

ADP foi inicialmente descrita como doença exclusiva do sistema nervoso central<sup>3</sup>. No entanto, a ideia de que a DP é iniciada fora do sistema nervoso central foi proposta e vem sendo investigada. Estudos mostram que o processo patológico é iniciado em dois pontos distintos e simultâneos: no bulbo olfatório e no sistema nervoso entérico<sup>3</sup>. A partir desses resultados, diversos estudos baseados em modelos animais têm sido realizados visando a elucidação dos mecanismos fisiopatológicos da DP.

O modelo de neurodegeneração induzida por 6-OHDA é um dos mais utilizados. A semelhança estrutural da 6-OHDA com a dopamina e noradrenalina, possibilita que a 6-OHDA seja rapidamente captada por neurônios dopaminérgicos e noradrenérgicos, formando peróxido de lipídeos, bem como, a inibição da atividade do complexo I da mitocôndria, consequentemente, causando a morte de grande parte dessas células<sup>14</sup>. Portanto, no presente estudo, o modelo de indução da DP por 6-OHDA foi utilizado visando ampliar o entendimento dos mecanismos fisiopatológicos da DP ao nível gastrointestinal.

Rotações contralaterais induzidas por apomorfina refletem a hipersensibilidade e o grau de severidade das lesões no estriado causadas por injeção unilateral de 6-OHDA<sup>17</sup>. Neste estudo, o número de rotações contralaterais observadas durante 60 min foi superior a 350, desta forma, indicando que os animais utilizados foram sensíveis ao modelo de neurodegeneração induzida (Figura 1).

A taxa de esvaziamento gástrico é medida da velocidade de entrega do conteúdo gástrico no duodeno<sup>9</sup>. Neste estudo, uma técnica eficiente, sem produzir radiação ionizante, baseada em refeição teste contendo um marcador não absorvível foi utilizada. Os resultados obtidos mostraram que a DP retardou o esvaziamento gástrico dos animais nos diferentes tempos estudados (Figura 2 A, B, C). A curva de esvaziamento gástrico construída a partir dos resultados obtidos nos tempos 10, 20 e 30 min pós-prandiais mostrou maior retenção da refeição teste no estômago dos animais do grupo 6-OHDA (Figura 2 D). A DP causou atraso do trânsito intestinal, evidenciado a partir do centro de massa da refeição teste, quando os animais do grupo 6-OHDA foram comparados aos do grupo controle (Figura 4 A). Além disso, redução significativa da liberação fecal também foi observada nos animais do grupo 6-OHDA, um indicativo de constipação, relatada em aproximadamente 90% dos pacientes com DP<sup>12</sup>.

Estes resultados corroboram com várias pesquisas sobre os efeitos da DP sobre o esvaziamento gástrico em modelo animais. Estudos realizados com ratos lesados com 6-hidroxidopamina reportaram atraso do esvaziamento gástrico e constipação<sup>20</sup>. Alterações neuroquímicas e neurofisiológicas no eixo intestino-cérebro de ratos com neurodegeneração induzida por 6-OHDA também são reportadas<sup>18</sup>. Análises radiológicas realizadas em ratos submetidos à neurodegeneração mostraram atraso do esvaziamento gástrico e constipação intestinal<sup>19</sup>. Estudos realizados recentemente, mostraram que os distúrbios da motilidade gastrointestinal, como retardo do trânsito intestinal, liberação fecal lenta e com baixo teor de umidade foram os primeiros de sintomas observados nos animais estudados<sup>7</sup>.

A DP não interferiu na complacência gástrica dos animais nas diferentes pressões estudadas (Figura 4B). Este resultado sugere que o retardo do esvaziamento gástrico nos animais com

DP foi ocasionado por atraso no processo abertura da válvula pilórica, consequentemente, retendo por mais tempo a refeição teste no estômago dos animais. Este atraso tem implicações importantes do ponto de vista farmacocinético, uma vez que afeta a biodisponibilidade da levodopa, causando flutuações das respostas terapêuticas, afetando o quadro clínico do paciente<sup>12</sup>. Além disso, alterações na microflora intestinal também foram relatadas em pacientes com DP<sup>10</sup>.

O trato gastrointestinal é amplamente interligado com o sistema nervoso central e recebe sinais de natureza tanto simpática quanto parassimpática e fornecem extensiva inervação para os plexos do sistema nervoso entérico<sup>8</sup>. O esvaziamento gástrico é regulado por vias neurais extrínsecas como as vias vagal e esplâncnica, além da inervação intrínseca coordenadas pelo sistema nervoso entérico<sup>12</sup>. Portanto, os resultados deste estudo também mostraram que o bloqueio cirúrgico das vias vagais e esplâncnicas foi capaz de reverter o retardo do esvaziamento gástrico, evidenciando o envolvimento de tais vias no atraso do esvaziamento gástrico observado (Figura 5 A, B). Estudos realizados recentes demonstraram que os circuitos motores vagais inibitórios e excitatórios são responsáveis pelo controle preciso do esvaziamento gástrico<sup>9</sup>. Portanto, na DP as disfunções gastrointestinais estão principalmente associadas ao comprometimento do eixo intestinal cerebral, envolvendo as fibras eferentes da via vagal projetadas diretamente no plexo mientérico gástrico<sup>14</sup>. Curiosamente, o bloqueio da conexão cérebro-intestino cortando cirurgicamente o ramo troncular do nervo vago reduziria os distúrbios da DP<sup>16</sup>.

A DP retardou o esvaziamento gástrico e o trânsito intestinal cujos distúrbios podem afetar a biodisponibilidade de fármacos e absorção de nutrientes, agravando o quadro clínico do paciente. O retardo do esvaziamento gástrico foi revertido após a intervenção cirúrgica da vagotomia troncular e da esplanctomia e gangliectomia celiaca, sugerindo o envolvimento de tais vias na fisiopatologia da doença. Desta forma, a neurodegeneração induzida por 6-OHDA apresentou-se como modelo capaz de mimetizar os principais sintomas da DP, possibilitando maior compreensão dos efeitos dessa doença sobre a motilidade gastrointestinal, permitindo diagnosticar distúrbios com maior precisão e viabilizar descobertas de intervenções farmacológicas visando tratamento mais eficaz.

## CONCLUSÃO

A DP compromete o esvaziamento gástrico, bem como o trânsito intestinal, mas não altera a complacência gástrica. Estes fatores associadamente contribuem para o agravamento dos sintomas por interferirem na absorção da terapia medicamentosa. Contudo, o retardo do esvaziamento gástrico foi revertido pela vagotomia troncular, esplanctomia e gangliectomia celiaca, sugerindo o envolvimento de tais vias no retardo do esvaziamento gástrico.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho faz parte da dissertação de mestrado em Biotecnologia do Dr. José Cirlanio Sousa Albuquerque, desenvolvida na Universidade Federal do Ceará. Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo, a professora Lissiana Magna Vasconcelos Aguiar por sua valiosa colaboração, ao professor José Ronaldo Vasconcelos da Graça por sua orientação e ao Sr. Francisco José Gomes, por seu apoio e assistência técnica.

## REFERÊNCIAS

1. Araújo DP De, Nádia C, Sousa S De, Victor P, Araújo P, Eduardo C, et al. Behavioral and Neurochemical Effects of Alpha-Lipoic Acid in the Model of Parkinson's Disease Induced by Unilateral Stereotaxic Injection of 6-OHda in Rat. *Hindawi Publ Corp*. 2013;1741-427X.

2. Blandini F, Balestra B, Levandis G, Cervio M, Greco R, Tassorelli C, et al. Neuroscience Letters Functional and neurochemical changes of the gastrointestinal tract in a rodent model of Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2009;467:203–7.
3. Braak H, Del Tredici K, Rüb U, De Vos RAI, Jansen Steur ENH, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):197–211.
4. Cersosimo MG, Benarroch EE. Neurobiology of Disease Pathological correlates of gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* [Internet]. 2012;46(3):559–64.
5. Duty S, Jenner P. Animal models of Parkinson's disease: A source of novel treatments and clues to the cause of the disease. *Br J Pharmacol*. 2011;164(4):1357–91.
6. Gesi M, Soldani P, Giorgi FS, Santinami A, Bonaccorsi I, Fornai F. The role of the locus coeruleus in the development of Parkinson's disease. *Neurosci Biobehav Rev*. 2000;24(6):655–68.
7. Ghaisas S, Langley MR, Palanisamy BN, Dutta S, Narayanaswamy K, Plummer PJ, et al. Neurotoxicology MitoPark transgenic mouse model recapitulates the gastrointestinal dysfunction and gut-microbiome changes of Parkinson's disease. *Neurotoxicology* [Internet]. 2019;75(August):186–99.
8. Goyal RK, Guo Y, Mashimo H. Advances in the physiology of gastric emptying. *Neurogastroenterol Motil*. 2019;31(4):1–14.
9. Graça JRV, Parente CC, Fiúza RF, da Silva PAF, Mota BT, Salles LD, et al. Subtotal nephrectomy inhibits the gastric emptying of liquid in awake rats. *Physiol Rep*. 2015;3(2):1–10.
10. Hasegawa S, Goto S, Tsuji H, Okuno T, Asahara T, Nomoto K, et al. Intestinal dysbiosis and lowered serum lipopolysaccharide-binding protein in Parkinson's disease. *PLoS One*. 2015;10(11):1–15.
11. Johnson ME, Stringer A, Bobrovskaya L. NeuroToxicology Rotenone induces gastrointestinal pathology and microbiota alterations in a rat model of Parkinson's disease. *Neurotoxicology* [Internet]. 2018;65:174–85.
12. Marrinan S, Emmanuel A V., Burn DJ. Delayed gastric emptying in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2014;29(1):23–32.
13. Palheta RC, Rola FH, Lira GHS, Gomes DA, Carvalho FM, Elias LLK, et al. Atrial stretch increases the gastric tonus of anesthetized rats. *Life Sci* [Internet]. 2010;86(11–12):441–7.
14. Pellegrini C, Antonioli L, Colucci R, Ballabeni V, Barocelli E, Bernardini N, et al. Parkinsonism and Related Disorders Gastric motor dysfunctions in Parkinson's disease : Current pre-clinical evidence. *Park Relat Disord* [Internet]. 2015;21(12):1407–14.
15. Rodrigues CL, Camurç D, Pianco HM, Helio F. Neural mechanisms involved in the delay of gastric emptying and gastrointestinal transit of liquid after thoracic spinal cord transection in awake rats. *Auton Neurosci Basic Clin*. 2001;87:52–8.
16. Smith LM, Parr-Brownlie LC. A neuroscience perspective of the gut theory of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci*. 2019;49(6):817–23.
17. Souza RB, Frota AF, Sousa RS, Ara N, Mara L, Souza F, et al. Neuroprotective Effects of Sulphated Agar from Marine Alga *Gracilaria cornea* in Rat 6-Hydroxydopamine Parkinson's Disease Model : Behavioural , Neurochemical and Transcriptional Alterations. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2017;120:159–70.
18. Toti L, Travagli RA. Gastric dysregulation induced by microinjection of 6-OHDA in the substantia nigra pars compacta of rats is determined by alterations in the brain-gut axis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 307. 2014;(54):1013–23.
19. Vegezzi G, Al Z, Levandis G, Cerri S, Blandini F, Gnudi G, et al. Radiological analysis of gastrointestinal dysmotility in a model of central nervous dopaminergic degeneration : Comparative study with conventional in vivo techniques in the rat. *J Pharmacol Toxicol Methods* [Internet]. 2014;70(2):163–9.
20. Zhu HC, Zhao J, Luo CY. Gastrointestinal Dysfunction in a Parkinson's Disease Rat Model and the Changes of Dopaminergic , Nitric Oxidergic, and Cholinergic Neurotransmitters in Myenteric Plexus. *J Mol Neurosci*. 2012;47:15–25.