

Modelo Experimental para Evaluar el Tránsito Gastrointestinal en Ratones

Toso, R. E.; Skliar, M. I.; Verna, E.

Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional de la Pampa
E-mail: retoso@criba.edu.ar

RESUMEN

Se describe un modelo experimental para evaluar la acción de drogas, formulaciones medicamentosas o extractos vegetales sobre el tránsito gastrointestinal. Se administran los compuestos problema a 4 ratones, 30 minutos antes de comenzar el bioensayo, para asegurar la absorción. Inmediatamente antes del ensayo se suministra una solución de sulfato de bario per os y se toman radiografías seriadas cada 30 minutos. Observando el progreso de la sustancia radiopaca en el tracto gastrointestinal puede evaluarse comparativamente la acción de distintos compuestos entre sí o respecto a un grupo control. Este método posee ventajas sobre otros ya descriptos al ser incruento, reproducible, confiable y económico. Estas características permiten su empleo en forma rutinaria para detectar compuestos que evidencien una actividad farmacológica promisorio.

Palabras claves: Motilidad gastrointestinal, modelo experimental, vaciado gastrointestinal.

SUMMARY

An experimental model is described to evaluate drug action, medicinal formulations or vegetable extracts on gastrointestinal transit. Test compounds are administered to 4 mice, 30 minutes before beginning the bioassay to assure the absorption. Immediately before the assay, a per os barium sulfate solution is given and serial radiographies are taken every 30 minutes. Observing the progress of the radiopaque substance in the gastrointestinal tract, it is possible to evaluate the action of different compounds among them or with respect to a control group. This method has advantages on some others already described, since it is bloodless, reproducible, reliable and economic. These characteristics allow their regular use to detect compounds that evidence a promissory pharmacological activity.

Key words: Gastrointestinal motility, experimental model, gastrointestinal emptying.

INTRODUCCIÓN

La diarrea es uno de los desordenes gastrointestinales de mayor prevalencia en medicina veterinaria y una de las principales causas de mortalidad. Procesos agudos, generalmente de origen infeccioso que cursan con síntomas disentéricos, provocan la pérdida excesiva de fluidos, complicaciones y atraso en el desarrollo de los animales. Los tratamientos, además de eliminar los agentes infecciosos o irritantes que provocan la diarrea, deben compensar la deshidratación y administrar drogas que disminuyan la motilidad gastrointestinal.

La investigación farmacéutica realiza esfuerzos dirigidos al descubrimiento de nuevos compuestos farmacológicos que actúen inhibiendo la motilidad gastrointestinal, ya que controlan rápidamente la pérdida de líquidos mejorando la absorción de nutrientes. Se utilizan numerosas estrategias farmacológicas y no farmacológicas,

incluyéndose una serie de medicamentos tradicionalmente empleados tales como antibacterianos, sustancias absorbentes, protectores de las mucosas, anticolinérgicos e inhibidores de la motilidad intestinal. La fitomedicina, fuente de la mayoría de las drogas que se utilizan en el tratamiento de distintas enfermedades, ha realizado importantes aportes para el tratamiento de los trastornos gastrointestinales. Entre otras plantas, pueden citarse: *Limonium brasiliense*, *Psidium guajava*, *Dorstenia brasiliensis*, *Cecropia pachystachya*, *Cissampelos pareira*, *Byrsonima crassifolia*, *Otholobium mexicanum* y *Caesalpinia spinosa* (Gupta, 1995).

El desarrollo de modernas técnicas de separación y elucidación estructural ha contribuido de forma manifiesta a la identificación de numerosos principios naturales a partir de plantas. Una serie de ellos han mostrado importantes propiedades antidiarreicas. Tal es el caso de algunas lactonas sesquiterpénicas, alcaloides berberínicos y compuestos polifenólicos entre los que se encuentran flavonoides y taninos condensados (Evans, 1995; Kuklinski, 2000).

Contar con un método experimental, económico, rápido y reproducible, para evaluar la acción de nuevos compuestos sobre el tránsito intestinal, es una de las dificultades que se presentan en la investigación y desarrollo de nuevas drogas. Se han diseñado distintos modelos experimentales, algunos *in vitro* y otros *in vivo* que permiten realizar este tipo de estudios. Por ejemplo, entre las técnicas *in vitro* podemos mencionar el baño de órganos (Cejalvo Lapeña et al., 1989). Esta técnica requiere de personal entrenado, empleo de drogas de buena calidad y preparación minuciosa de las soluciones. Los ensayos llevan mucho tiempo para su desarrollo y además deben sacrificarse los animales para extraer la sección de intestino u órgano que se utilice para el ensayo. Otro método permite registrar, mediante electrodos, la actividad eléctrica del músculo liso *in vitro* como consecuencia de los cambios de potencial creados (Cejalvo Lapeña et al., 1987). Los métodos *in vitro* poseen la ventaja que pueden cuantificarse las respuestas o efectos en forma precisa y se eliminan las respuestas de carácter reflejo neural o de retroalimentación neuronal.

Los modelos *in vivo*, permiten conocer como reacciona el órgano por efecto de una determinada droga y que respuestas fisiológicas refleja provoca permitiendo evaluar acciones colaterales. Midiendo el tránsito gastrointestinal, puede determinarse la acción de las drogas sobre la motilidad intestinal. Este método, utilizado por varios autores (Yamazaki et al., 2000; Gorzalezany et al., 2001), consiste en administrar charcoal en ratas que se sacrifican en distintos períodos de tiempo. La sustancia administrada es visible a través del intestino, permitiendo medir la longitud del desplazamiento a través del tiempo. Purdon y Bass (1979) evaluaron el tránsito intestinal administrando una suspensión de $Ba^{133}SO_4$ a ratas de distintos grupos que fueron sacrificadas a los 15, 30, 60 y 120 minutos. El tracto digestivo fue extraído y se ligó dividiéndolo en distintos segmentos para medir la radioactividad en cada uno de ellos. Este método permite determinar la capacidad de vaciado gastrointestinal de los distintos grupos al comparar el porcentaje de radioactividad presente en cada segmento. La colocación de electrodos en retículo, rumen, abomaso y duodeno permite medir las contracciones por unidad de tiempo (Plaza et al., 1996).

Los métodos descriptos requieren de personal altamente entrenado, equipamiento adecuado y drogas de alto costo, como es el caso del $Ba^{133}SO_4$. En algunos casos es necesario realizar una cirugía previa para colocar los electrodos y en otros se requiere del sacrificio de los animales.

Teniendo en cuenta estas dificultades en este trabajo se describe un método radiográfico que permite evaluar los efectos de drogas o extractos sobre el vaciado gastrointestinal en ratones. El método es simple, económico, reproducible, incruento y permite reutilizar los animales para nuevos ensayos luego de un período de descanso de 1 semana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales utilizados: ratones machos o hembras de 28-30 g de peso. Los animales deben ser sometidos a un ayuno de alimentos y agua de 24 y 12 horas respectivamente antes del ensayo.

Determinación de la acción de una formulación medicamentosa sobre el tiempo de vaciado gastrointestinal:

Las drogas, extractos o fórmulas medicamentosas a ensayar deben estar disueltas en un vehículo apropiado y el volumen total a administrar no deberá sobrepasar los 0,5 ml para cualquiera de las vías de administración que se pretenda utilizar. Los animales del grupo control serán administrados con un volumen igual del excipiente.

Los animales de cada grupo reciben el tratamiento y luego de un período de 30 minutos, para asegurar la absorción de los compuestos a ensayar, a cada ratón se le administra por os 0,8 ml de una solución de contraste. Se comienzan a tomar radiografías seriadas a tiempo cero y cada 30 minutos que permitirán realizar evaluaciones comparativas sobre el progreso de la sustancia radiopaca a través del tracto gastrointestinal.

Durante el ensayo, los ratones se colocan en jaulas individuales de inmovilización de 2,2 x 9 cm construidas de polipropileno para que no interfieran la imagen radiográfica.

Dosis, vía de administración y preparación de la solución de contraste:

La solución se prepara disolviendo 1 g de sulfato de bario (Gastropaque 'S', Lab. Temis – Lostaló S. A.) por cada 15 ml de agua destilada. Utilizando una sonda gástrica se administra a cada animal 0,8 ml de la solución.

Número de animales por grupo y ensayos a utilizar:

Un total de 5 animales por grupo es suficiente para determinar el tiempo de evacuación gástrico e intestinal de los animales. Los ensayos deben repetirse hasta 4 veces para asegurar la reproducibilidad de la respuesta a los tratamientos.

Rayos X:

Se utiliza una potencia de 80 Kw, una penetración 15 mA y un tiempo de exposición de 0,01 segundos.

Interpretación de los resultados:

En la figura 1 (A–D) se muestra un ejemplo del empleo del modelo experimental utilizado para determinar la acción espasmolítica del extracto acuoso (EA) obtenido a partir de capítulos secos de *Centaurea solstitialis*. En el mismo ensayo se evaluaron los extractos metanólico (EM) y clorofórmico (EC) obtenidos a partir del extracto acuoso con el fin de determinar en cual de estas fracciones se encontraba el o los principio/s activo/s de la planta.

En el ejemplo de la figura se colocó un animal perteneciente a cada grupo para facilitar las comparaciones con el grupo control (GC) al que sólo se le administró excipientes y se muestran solamente las radiografías tomada a los 0, 60, 120 y 300 minutos. Puede observarse que el vaciado gástrico se ha completado casi totalmente en el estómago del ratón perteneciente al grupo control a los 60 minutos de administrada la solución radiopaca (Fig. 1B). Los estómagos del resto de los animales, tratados con los distintos extractos, permanecen plétóricos y el avance del contenido intestinal no es muy importante respecto a las imágenes correspondientes de la figura 1A. En la radiografía que corresponde a los 120 minutos pos administración de la sustancia

radiopaca, se observa un importante desplazamiento de la misma en el tracto intestinal del grupo control (Fig. 1C), haciéndose notoria la evacuación en la Fig. 1D a los 300 minutos, mientras que en los animales pertenecientes a los grupos restantes se observa un moderado progreso del contenido intestinal sin evacuación.

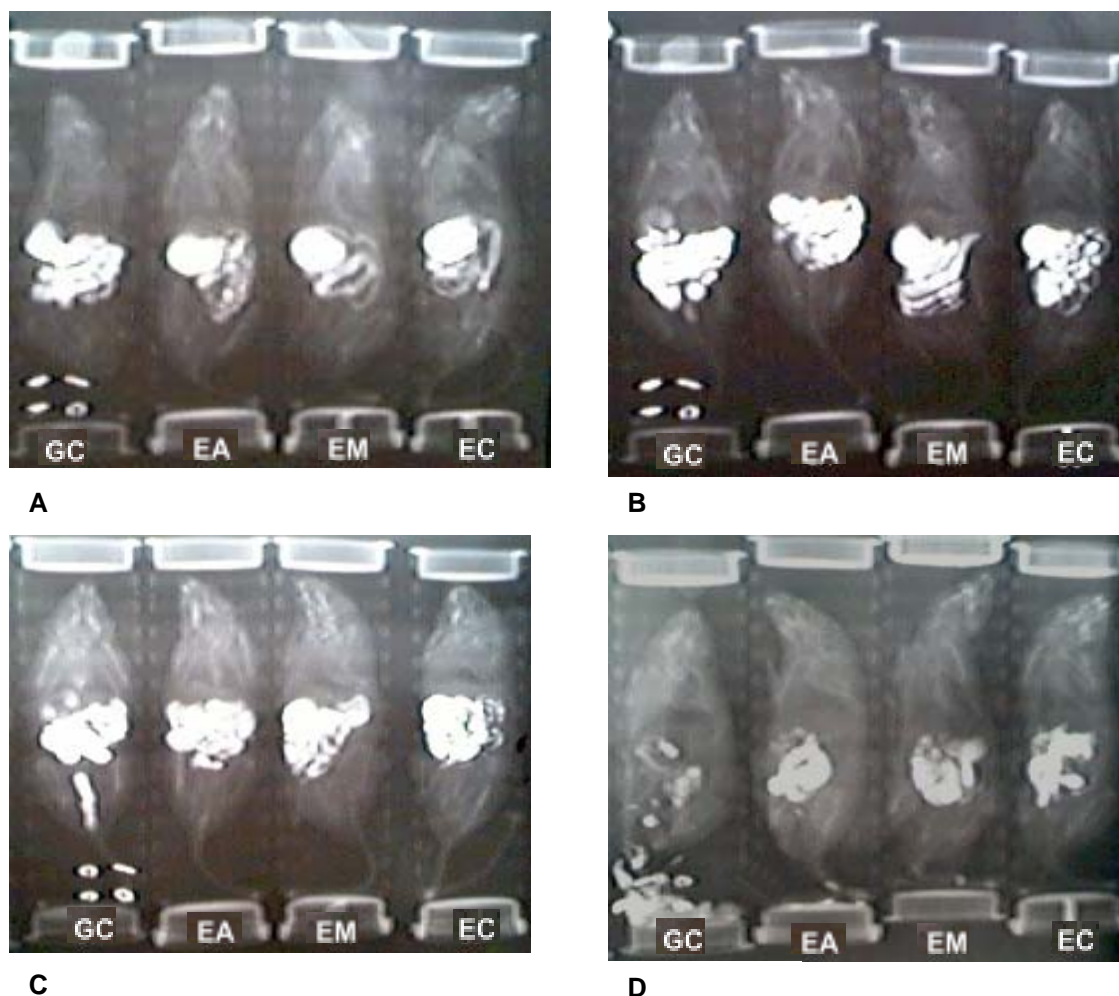


Fig. 1 (A–D): Radiografías seriadas de ratones pertenecientes a los grupos control (GC) y tratados con extractos acuoso (EA), metanólico (EM) y clorofórmico (EC) de *Centaurea solstitialis* tomadas a los 0, 60, 120 y 300 minutos respectivamente. Las cuatro marcas radiopacas que aparecen en la parte inferior de los animales del GC en todas las figuras, corresponden a una señal de identificación de la jaula de inmovilización. Las figuras mostradas pertenecen a una de las cuatro repeticiones efectuadas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El modelo experimental descrito tiene ventajas comparativas respecto a otras técnicas. Entre ellas puede señalarse que permite evaluar la acción de los compuestos sobre todos los mecanismos de regulación de la actividad gastrointestinal al utilizar animales in vivo. El tiempo de vaciado gástrico y de la evacuación total de la sustancia de contraste puede medirse sin dificultad y no es necesario sacrificar a los animales como en otras técnicas que utilizan animales in vivo. La permanencia de los animales dentro de la jaula de inmovilización permite el manejo práctico de los distintos grupos durante el ensayo. No hay necesidad de realizar cirugías previas, utilizar sustancias radioactivas o emplear técnicas de disección posteriores. El tamaño de los animales de experimentación utilizado requiere cantidades muy pequeñas de los compuestos a

ensayar, hecho que resulta de interés cuando se utilizan compuestos de difícil o costosa purificación. Utilizando varios grupos de ratones pueden ensayarse varios compuestos al mismo tiempo. El método es incruento y permite la reutilización de los animales para nuevos ensayos luego de un período de descanso de una semana.

En conclusión, el método permite comprobar en forma rápida, económica, confiable y reproducible la acción de drogas, formulaciones medicamentosas o extractos vegetales sobre el tiempo de vaciado gastrointestinal.

Teniendo en cuenta que la investigación y desarrollo de medicamentos requiere el ensayo de un gran número de compuestos o formulaciones, se informa la capacidad de diagnóstico de este método. Sus características permiten utilizarlo como una técnica de rutina para determinar, a través de análisis comparativos de las imágenes radiográficas, la actividad inhibitoria potencial de distintos compuestos en forma simultánea sobre el tránsito gastrointestinal.

BIBLIOGRAFÍA

- Cejalvo Lapeña, D.; Cortijo Gimeno, J.; Gimeno Forner, L.; Bolant Hernández, B.; Calvo Bermúdez, M. A.; Lloris Carsi, J. M.** 1989. El órgano aislado como reactivo experimental. *Research in Surgery*, 3: 10 – 17.
- Evans, W. C.** 1995. *Farmacognosia*. Trease y Evans. 13ª edición. Ed. Interamericana, McGraw-Hill. México D. F., México, pp. 156 – 157.
- Gorzalezany, S.; Filip, R.; Alonso, M. R.; Miño, J.; Ferraro, G. E.; Acevedo, C.** 2001. Choleric effect and intestinal propulsion of “mate” (*Ilex paraguariensis*) and its substitutes or adulterants. *Journal of Ethnopharmacology*, 75: 291 – 294.
- Gupta, M. P.** 1995. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Ed. Talleres de Editorial Presencia Ltda. Santafé de Bogotá, D. C. Colombia. pp. 250 – 325.
- Kuklinski, C.** 2002. *Farmacognosia*. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ed. Omega, S. A. Barcelona, España, pp. 292 – 294.
- Plaza, M. A.; Arruebo, M. P.; Sopena, J.; Bonafonte, J. I.; Murillo, M. D.** 1996. Myoelectrical activity of the gastrointestinal tract of sheep analyzed by computer. *Research in Veterinary Science*, 60: 55 – 60.
- Purdon, R. A.; Bass, P.** 1973. Gastric and intestinal transit in rats measured by a radioactive test meal. *Gastroenterology*, 64: 968 – 976.
- Yamazaki, T.; Matsushita, Y.; Kawashima, K.; Someya, M.; Nakajima, Y.; Kurashige, T.** 2000. Evaluation of the pharmacological activity of extracts from *Amomi semen* on the gastrointestinal tracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 71: 331 – 335.