

Sección cervical del nervio vago y pérdida de peso en ratas

Dora Luz de la Cruz-Aguilera¹, Juan Calleja¹, Adrián Martínez², Gabriel Morales-Espinoza¹,
Francisco Pellicer², Lucinda Aguirre-Cruz¹

RESUMEN

Objetivos: evaluar el efecto de la vagotomía cervical sobre el peso en ratas con y sin punción cardíaca. **Material y métodos:** ochenta ratas macho de la cepa Wistar, de 250 a 300 g fueron divididas en 4 grupos (n = 20). En las ratas del grupo A, se realizó una incisión de 2 cm en la cara anterior del cuello, identificando el nervio vago derecho y seccionamos; en las del grupo B (*sham*) expusimos el nervio vago sin seccionarlo; las ratas de los grupos C (con punción cardíaca) y D (sin punción cardíaca) no se operaron (controles sin intervención quirúrgica). Así, todos los animales, excepto los del grupo D, fueron sangrados por punción cardíaca antes de la vagotomía y el 21° día del período posoperatorio (PPO). El peso de todas las ratas se registró antes de la vagotomía (día 0) y los días 1-7, 14 y 21 del PPO. Las diferencias de peso entre los grupos se determinaron por análisis de varianza. **Resultados:** el peso de los animales con vagotomía fue significativamente menor que el de los que no tenían vagotomía sólo en el primer día del PPO ($p < 0.05$). El peso de las ratas no operadas con y sin punción cardíaca fue similar. **Conclusiones:** la vagotomía cervical se asocia a pérdida de peso en las ratas, sólo en las primeras 24 hs del PPO. La punción cardíaca no causa variaciones en el peso de ratas con y sin vagotomía.

Palabras clave: sección cervical, nervio vago, pérdida de peso posvagotomía, vagotomía cervical.

Cervical section of vagus nerve and loss of weight in rats

ABSTRACT

Objectives: to evaluate the effect of cervical vagotomy on the weight of rats with and without cardiac puncture. **Material and methods:** eighty male Wistar rats, weighing 250-300 g were divided into four groups (n = 20). In rats from Group A, a midline incision of 2 cm in the anterior neck, identification and section of the vagus nerve were made; in those from Group B (*sham*), the vagus nerve was exposed, but it was not sectioned; the rats from Groups C (with cardiac puncture) and D (without cardiac puncture) were not operated (controls without surgical intervention). Then, all animals except those of the Group D, were bled by cardiac puncture before the vagotomy and in the 21st post-operative (PO) day. The weight of all rats was registered before making the vagotomy (day 0), everyday from the 1st to 7th, the 14th and the 21st PO days. The weight of vagotomized animals was significantly lower than that in non-vagotomized animals, only in the first PO day ($p < 0.05$). The weight of rats with and without cardiac puncture was similar. **Conclusions:** the cervical vagotomy associates to a loss of weight in rats, only in the first 24 h of the PO period. The cardiac puncture does not cause variations of weight in rats with or without vagotomy.

Key words: cervical section, cervical vagotomy, loss of weight post-vagotomy, vagus nerve.

Desde hace varias décadas, se tiene conocimiento de la estrecha interacción de los sistemas neuroendócrino e inmune¹⁻⁶. Así, se ha planteado que el sistema nervioso puede regular la respuesta inmune a través de un “reflejo inflamatorio”^{7,8}. Uno de los nervios que parece estar modulando la respuesta inflamatoria es el vago, el cual inerva hígado, bazo y pulmones, que actúan como filtros o vías de entrada de patógenos o sus productos. El mecanismo por medio del cual el sistema nervioso parece estar regulando la respuesta inmune (inflamación) es a través del brazo eferente del reflejo inflamatorio (vía anti-inflamatoria colinérgica dependiente del nervio vago)⁹⁻¹¹, pero es necesario aún caracterizar las vías a través de las cuales el vago regula las respuestas inflamatorias a nivel central¹²⁻¹⁴.

La vagotomía o sección del nervio vago es un procedimiento quirúrgico que se ha utilizado desde hace varios años para tratar la úlcera péptica en humanos que no responden al tratamiento médico, con la finalidad de disminuir la producción de ácido por el estómago¹⁵⁻¹⁷. El mecanismo propuesto para explicar este efecto es la inhibición de la secreción de ácido clorhídrico y de la sensación de hambre, lo que hizo suponer que esta técnica podría utilizarse para tratar la obesidad¹⁷⁻¹⁹.

Kral, et al, en 1993, observaron una pérdida de peso leve, un año después de vagotomía troncal en pacientes obesos, quienes recobraron su peso 5 años después de la cirugía²⁰. Existen estudios que reportan pérdida de peso en animales sometidos a vagotomía subdiafragmática²¹⁻²³. Así, es inminente que el nervio vago regula la secreción de diversas hormonas con efectos diversos en el aparato digestivo^{24, 25}. Todos los estudios realizados hasta ahora han empleado la sección subdiafragmática del vago para estudiar su efecto sobre la pérdida de peso^{18,26,27}, pero este procedimiento afecta respuestas nociceptivas en humanos y animales²⁸⁻³¹.

OBJETIVOS

En este trabajo, evaluamos el efecto de la vagotomía cervical sobre el peso de ratas con y sin punción cardíaca, que será el modelo que usaremos para caracterizar las vías de regulación central del vago y su efecto sobre la respuesta inmune.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales: ratas macho de la cepa Wistar de 250 a 300 g de peso, fueron mantenidas a 25 °C, con ciclos de luz-obscuridad de 12 hs con ingesta de agua y alimento *ad libitum*. Todos los animales fueron tratados de acuerdo a los lineamientos bioéticos de manejo de animales.

Grupos experimentales: distribuimos al azar 80 ratas Wistar en cuatro grupos experimentales (n = 20). En las

ratas del grupo A, realizamos una incisión de 2 cm en la cara anterior del cuello, identificamos el nervio vago derecho y lo seccionamos; en las del grupo B (*sham*) expusimos el nervio vago sin seccionarlo; las ratas de los grupos C (con punción cardíaca) y D (sin punción cardíaca) no se operaron (controles sin intervención quirúrgica). Así, todos los animales excepto los del grupo D, fueron sangrados por punción cardíaca antes de la vagotomía y en el día 21° del período posoperatorio (PPO). El peso de todas las ratas se registró antes de la vagotomía (día 0) y los días 1-7, 14 y 21 del PPO.

Vagotomía: bajo anestesia intraperitoneal con ketamina (80 mg/k de peso) y xilazina intramuscular (10 mg/k de peso), se colocó a la rata en posición supina en una mesa de cirugía, sujetándola de las extremidades. Se hizo tricotomía cervical y se realizó asepsia de la piel con etanol al 96% y povidona yodada. Enseguida, se hizo una incisión, en la línea media de la cara anterior del cuello, de 2 cm aproximadamente. Se disecó la glándula submaxilar, localizada inmediatamente debajo de la piel, con tijeras mayo rectas hasta identificar los músculos pretraqueales (omohioideo, esternohioideo y esternotiroides), los cuales se disecaron hasta identificar la tráquea. Se localizó el paquete neurovascular derecho con las pinzas curvas y enseguida se disecó y se separó el nervio vago de la arteria carótida derecha, en un trayecto de 3 mm aproximadamente, utilizando las pinzas de relojero. Entonces, se seccionó el nervio vago con las tijeras de microcirugía. Por último, se afrontaron los lóbulos de la glándula submaxilar, con pinzas de disección sin dientes y se suturó la piel con nylon crómico 3-0, con puntos simples³². Se realizó asepsia nuevamente con povidona yodada y se colocó a los animales en cajas individuales para su recuperación. Se administró enrofloxacin (4 mg/k de peso) en el agua de bebida de los animales durante 7 días, a fin de prevenir el desarrollo de infecciones.

Registro del peso de los animales: el peso de todas las ratas se registró antes de la vagotomía (día 0) y los días 1-7, 14 y 21 del PPO. Los animales se pesaron siempre a la misma hora del día.

Técnica de extracción sanguínea por punción cardíaca: a fin de tomar un volumen de sangre suficiente para obtener cantidades de suero (para determinar ulteriormente

Recibido: 14 febrero 2011. Aceptado: 2 marzo 2011.

¹Laboratorio de Neuroinmunoendocrinología, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, México; ²Laboratorio de Neurofisiología Integrativa, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, México. Correspondencia: Ma. Lucinda Aguirre Cruz. Laboratorio de Neuroinmunoendocrinología, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Av. Insurgentes Sur # 3877, Col. La Fama. 14269 México, D. F. E-mail: lucinda@servidor.unam.mx

hormonas y citocinas) y para evitar sufrimiento de los animales, se empleó la técnica de punción cardíaca. La rata previamente anestesiada se coloca en posición supina sobre la mesa de cirugía. Se realiza asepsia con alcohol étílico de 96% en el área del apéndice xifoides del esternón. Se localiza el ángulo formado por la unión de los últimos cartílagos costales de lado izquierdo y el cuerpo esternal. Se introduce la aguja de 21G (jeringa de 3 mL) en ángulo recto con la caja torácica; una vez en la cavidad, se inclina en un ángulo de 45° y se avanza lentamente haciendo presión negativa con el émbolo de la jeringa hasta obtener sangre. Una vez obtenido el volumen permisible (calculado a partir del volumen sanguíneo circulante y peso de la rata) se suprime la presión sobre el émbolo de la jeringa y se retira lentamente la aguja. Se realiza una ligera presión (5 seg) con una torunda de algodón en el área de la punción. La sangre se deposita a la brevedad en el tubo Vacutainer® y se deja a temperatura ambiente, después de una hora de la extracción, la muestra se centrifuga a 2000 rpm durante 10 min, se separa el suero y se almacena a 70° C para posteriores análisis de interleucinas y hormonas³³.

Análisis estadístico: las diferencias de peso entre los grupos se determinaron por análisis de varianza (ANOVA), empleando el programa SPSS v 17.1 (*Statistical Package for the Social Sciences*).

RESULTADOS

La vagotomía cervical derecha, se realizó en un periodo de aproximadamente 20 minutos. Durante el procedimiento quirúrgico y el PPO; no se presentaron complicaciones en la función cardiopulmonar en ninguno de los animales estudiados.

El peso corporal fue significativamente menor ($p < 0.05$) en los animales con vagotomía que en los sham y en los no operados (con y sin punción cardíaca), sólo en las 24 h después de la vagotomía o cirugía sham. No obstante,

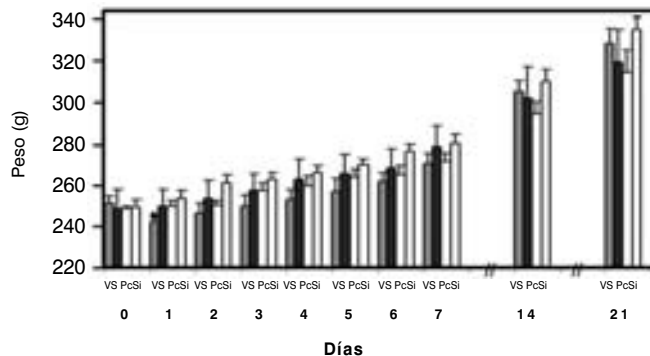


Figura 1. Peso promedio diario de ratas sometidas a diferentes condiciones de estrés (vagotomía cervical, V; exposición del vago sin seccionarlo, sham, S; punción cardíaca, PC; sin intervención, SI). * $p < 0.0459$.

a los 7 días el peso fue similar en todos los grupos experimentales (figura 1).

La punción cardíaca de las ratas permitió obtención de 2 a 2.5 ml de sangre, de los que se pudieron separar alrededor de 700 µl de suero. Esta técnica no causó pérdida de peso, alteraciones hipovolémicas o de taponamiento cardíaco y/o neumotórax en los animales.

DISCUSIÓN

Trabajos previos evidencian la relación que existe entre la vagotomía subdiafragmática y la pérdida de peso en humanos y animales^{18-20, 34}. Un estudio de vagotomía cervical, bilateral en perros, refiere pérdida de peso después de la cirugía³⁵. No obstante, los perros de este estudio fueron sometidos a cambios en la ingesta de agua y electrolitos, lo cual impide conocer si la pérdida de peso se relaciona sólo con la vagotomía. En este trabajo, se demuestra que la vagotomía cervical en ratas produce pérdida de peso significativa sólo en las primeras 24 hs del PPO, la cual desaparece conforme pasa el tiempo (figura 1). Este resultado, será fundamental en la planeación de la cirugía de implantación de electrodos cerebrales en estudios encaminados a la caracterización de las vías centrales de regulación vagal y su efecto sobre la respuesta inflamatoria. La pérdida de peso transitoria posvagotomía cervical unilateral pudiera explicarse por la existencia de un sistema complejo de señales centrales y periféricas que interactúan entre sí para modular a corto plazo la respuesta individual del consumo de nutrientes³⁶⁻³⁹, que pudiera estar compensada por el vago del lado contralateral (que no se seccionó).

CONCLUSIONES

La vagotomía cervical derecha induce pérdida de peso en las primeras 24 hs del PPO. La punción cardíaca no causa variaciones en el peso de ratas con y sin vagotomía, ni alteraciones hipovolémicas o de taponamiento cardíaco y/o neumotórax en los animales.

REFERENCIAS

1. Besedovsky H, Sorkin E, Keller M, Müller J. Changes in blood hormone levels during the immune response. *Proc Soc Exp Biol Med* 1975; 150(2): 466-70.
2. Blalock JE, Harbour-McMenamin D, Smith EM. Peptide hormones shared by the neuroendocrine and immunologic systems. *J Immunol*. 1985;135(2 Suppl): 858s-61s.
3. Blalock JE. Shared ligands and receptors as a molecular mechanism for communication between the immune and neuroendocrine systems. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 741: 292-8.
4. Steinman L. Elaborate interactions between the immune and nervous systems. *Nature Immunology* 2004; 5(6): 575-81.
5. Marques-Deak A, Cizza G, Sternberg E. Brain-immune interactions and disease susceptibility. *Mol Psychiatry* 2005;10:239-50.

6. O'Connor JC, McCusker RH, Strle K, Jonson RW, Dantzer R, Kelley KW. Regulation of IGF-I function by proinflammatory cytokines: At the interface of immunology and endocrinology. *Cell Immunol* 2008;252(172):91-110.
7. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature* 2002;420:853-9.
8. Pavlov VA. Cholinergic modulation of inflammation. *Int J Clin Exp Med* 2008;1:2003-12.
9. Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Walkins LR, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* 2000;405(6785):458-62.
10. Czura CJ, Friedman SG, Tracey KJ. Neural inhibition of inflammation: the cholinergic anti-inflammatory pathway. *J Endotoxin Res* 2003;9(6):409-13.
11. Wang H, Yu M, Ochani M, Amella CA, Tanovic M, Susarla S et al. Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* 2003;421(6921):384-8.
12. Pavlov VA, Tracey KJ. The cholinergic anti-inflammatory pathway. *Brain Beh Immun* 2005;9:493-99.
13. Gallowitsch-Puerta M, Pavlov VA. Neuro-immune interactions via the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Life Sci* 2007;80(24-25):2325-9.
14. Rosas-Ballina M, Tracey KJ. The neurology of the immune system: neural reflexes regulate immunity. *Neuron* 2009;64(1):28-32.
15. Dragstedt LR, Palmer WL, Schafer PW, Hodges PC. Supradiaphragmatic section of the vagus nerves in the treatment of duodenal and gastric ulcers. *Gastroenterology* 1944;3:450.
16. Amdrup E, Jensen HE. Selective vagotomy of the parietal cell mass preserving innervation of the undrained antrum. A preliminary report of results in patients duodenal ulcer. *Gastroenterology* 1970;59(4):522-7.
17. Stabile BE. Current surgical management of duodenal ulcers. *Surg Clin North Am* 199; 72(2):335-56.
18. Balbo SL, Mathias PC, Bonfleur ML, Alves HF, Siroti FJ, Monteiro OG, et al. Vagotomy reduces obesity in MSG-treated rats. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2000;108(5-6):291-6.
19. Kral JG, Paez W, Wolfe BM. Vagal nerve function in obesity: therapeutic implications. *World J Surg* 2009;33(10):1995-2006.
20. Kral JG, Görtz L, Hermansson G, Wallin GS. Gastroplasty for obesity: long-term weight loss improved by vagotomy. *World J Surg* 1993; 17(1):75-8.
21. Schwartz GJ, Berkow G, McHugh PR, Moran TH. Gastric branch vagotomy blocks nutrient and cholecystokinin-induced suppression of gastric emptying. *Am J Physiol* 1993;264(3 Pt 2): R630-R7.
22. Inoue S, Bray GA. The effects of subdiaphragmatic vagotomy in rats with ventromedial hypothalamic obesity. *Endocrinology* 1977; 100(1): 108-14.
23. Mordes JP, el Lozy M, Herrera MG, Silen W. Effects of vagotomy with and without pyloroplasty on weight and food intake in rats. *Am J Physiol* 1979;236(1):R61-R6.
24. Kral JG. Vagal mechanisms in appetite regulation. *Int J Obes* 1981;5(5):481-9.
25. Laskiewicz J, Królczyk G, Zurowski G, Sobocki J, Matyja A, Thor PJ. Effects of vagal neuromodulation and vagotomy on control of food intake and body weight in rats. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54(4):603-10.
26. Scalfani A, Aravich PF, Landman M. Vagotomy blocks hypothalamic hyperphagia in rats on a chow diet and sucrose solution, but not on a palatable mixed diet. *J Comp Physiol Psychol* 1981;95:720-34.
27. Bernstein IL, Goehler LE. Vagotomy produces learned food aversions in the rat. *Behav Neurosci* 1983; 97: 585-94.
28. Holtmann G, Goebell H, Jockenhoevel F, Talley NJ. Altered vagal and intestinal mechanosensory function in chronic unexplained dyspepsia. *Gut* 1998;42:501-6.
29. Khasar SG, Miao FJ, Jänig W, Levine JD. Vagotomy-induced enhancement of mechanical hyperalgesia in the rat is sympathoadrenal-mediated. *J Neurosci* 1998;18:3043-9.
30. Gschossmann JM, Mayer EA, Miller JC, Raybould HE. Subdiaphragmatic vagal afferent innervation in activation of an opioidergic antinociceptive system in response to colorectal distension in rats. *Neurogastroenterol Mot* 2002;14:403-8.
31. Furuta S, Shimizu T, Narita M, Matsumoto K, Kuzumaki N, Horie S, et al. Subdiaphragmatic vagotomy promotes nociceptive sensitivity of deep tissue in rats. *Neuroscience* 2009;164(3):1252-62.
32. Bernik TR, Friedman SG, Ochani M, DiRaimo R, Ulloa L, Yang H, et al. Pharmacological stimulation of the cholinergic antiinflammatory pathway. *J Exp Med* 2002; 195(6):781-8.
33. BVA/FRA/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working 1994. Lab Anim 1994; 28 (2):178-9. Diego Holotte, Jéssica Nipoti, Maria J. Pretini and Verónica E. Di Loreto. Antisepsis, sterilization and sepsis. In: Alfredo Rigalli, Verónica Elina Di Loreto (eds). Experimental Surgical Models in the Laboratory Rat. CRC Press, 2009;43-5.
34. Furness JB, Koopmans HS, Robbins HL, Clerc N, Tobin JM, Morris MJ. Effects of vagal and splanchnic section on food intake, weight, serum leptin and hypothalamic neuropeptide Y in rat. *Auton Neurosci* 2001; 92(1-2):28-36.
35. MacCanon DM, Horvath SM. Effect of bilateral cervical vagotomy in the dog. *Am J Physiol* 1957;189:569-72.
36. Moran TH, Baldessarini AR, Salorio CF, Lowery T, Schwartz GJ. Vagal afferent and efferent contributions to the inhibition of food intake by cholecystokinin. *Am J Physiol* 1997;272(4Pt 2):R1245-R51.
37. Valassi E, Scacchi M, Cavagnini F. Neuroendocrine control of food intake. *Nutr Metab Cardiovas Dis* 2008;18:158-68.
38. Berthoud HR. The vagus nerve, food intake and obesity. *Regul Pept* 2008;149:15-25.
39. Dockray GJ. The versatility of the vagus. *Physiol Behav* 2009; 97: 531-36.