

# EFEITO DO LIPOPOLISSACARÍDIO BACTERIANO SOBRE O ESVAZIAMENTO GÁSTRICO DE RATOS: avaliação do pré-tratamento com dexametasona e azul de metileno

Edgard Ferro COLLARES<sup>1</sup> e Adriana Mendes VINAGRE<sup>2</sup>

**RESUMO** – *Racional* – O óxido nítrico pode estar envolvido no retardo do esvaziamento gástrico produzido pelo lipopolissacarídeo bacteriano. *Objetivo* – Avaliar o efeito do pré-tratamento com a dexametasona, bloqueadora da indução do óxido nítrico-sintetase induzida e com o azul de metileno, que bloqueia a guanilato-ciclase, inibe as óxido nítrico-sintetases e inativa o óxido nítrico, sobre o retardo do esvaziamento gástrico determinado pelo lipopolissacarídeo em ratos. *Material e Métodos* – Foram utilizados ratos Wistar, machos, “specific pathogen free”, após 24 horas de jejum alimentar. No pré-tratamento foram empregadas, via intravenosa, soluções de dexametasona (3 e 6 mg/kg), azul de metileno (2 mg/kg) e veículo estéril. O tratamento constou da administração, via intravenosa, de lipopolissacarídeo (50 µg/kg) e veículo. O intervalo entre o pré-tratamento e o tratamento foi de 10 minutos, exceto no estudo com dexametasona 6 mg/kg, que foi de 1 hora. O intervalo entre a administração do lipopolissacarídeo e a avaliação do esvaziamento gástrico foi de 1 hora, exceto nos dois estudos com dexametasona 3 mg/kg que foram de 2 e 8 horas. O esvaziamento gástrico foi avaliado, indiretamente, através da determinação da percentagem de retenção gástrica de solução salina marcada com fenol vermelho. *Resultados* – Os valores de retenção gástrica, nos animais pré-tratados com dexametasona ou azul de metileno e tratados com veículo, não diferiram significativamente dos observados nos que receberam veículo nos dois momentos. Os animais pré-tratados com veículo e tratados com lipopolissacarídeo apresentaram valores de retenção gástrica significativamente mais elevados que nos controles. O pré-tratamento com dexametasona não interferiu no aumento da retenção gástrica determinado pelo lipopolissacarídeo, nas primeiras 2 horas após administração da endotoxina. Oito horas após a administração da endotoxina, foi observada diminuição significativa da retenção gástrica nos animais pré-tratados com dexametasona e tratados com lipopolissacarídeo em relação aos que receberam veículo + lipopolissacarídeo. O mesmo fenômeno foi observado nos animais pré-tratados com azul de metileno e tratados com lipopolissacarídeo. *Conclusão* – Os resultados sugerem o envolvimento do óxido nítrico no efeito do lipopolissacarídeo sobre o esvaziamento gástrico em ratos.

**DESCRIPTORIOS** – Esvaziamento gástrico. Lipopolissacarídeos. Óxido nítrico. Dexametasona. Azul de metileno. Ratos.

## INTRODUÇÃO

O lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano determina, em animais, retardo do esvaziamento gástrico (EG) de líquidos e sólidos<sup>(20, 36)</sup>. Em ratos, utilizando a via intravenosa (iv) e doses menores de LPS, o retardo do EG de uma refeição líquida foi precoce, intenso nas primeiras horas e correlacionado com a dose<sup>(8)</sup>. Estudo adicional demonstrou que o pré-tratamento com o próprio LPS aboliu este efeito, reproduzindo para o EG, o fenômeno de tolerância precoce, já descrito para outras alterações produzidas pela endotoxina<sup>(9)</sup>. Muitos dos efeitos do LPS em animais podem ser atribuídos

a fatores liberados na fase aguda da inflamação, estando entre estes as citocinas<sup>(4, 12, 18, 39)</sup> e óxido nítrico (ON)<sup>(35)</sup>. Há evidências da participação do ON nos mecanismos fisiológicos de relaxamento do piloro<sup>(28)</sup>, fundo gástrico<sup>(3, 10)</sup> e duodeno<sup>(24)</sup>. O fenômeno inibitório da atividade motora da musculatura lisa decorreria da ativação da guanilato-ciclase solúvel, na célula muscular, pelo ON produzido nesta célula a partir da ligação do VIP, liberado nas terminações não-colinérgicas não-adrenérgicas entéricas, com receptores localizados na membrana celular<sup>(15, 23, 31)</sup>. A síntese do ON a partir de L-arginina depende da ação das ON-sintetases (ONS) constitutivas, ONS I (ou nc-ONS) e ONS III (ou ec-ONS) presentes no sistema nervoso

Trabalho realizado no Departamento de Pediatria, Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE) e Centro de Investigação em Pediatria (CIPED) da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP.

<sup>1</sup>Departamento de Pediatria; <sup>2</sup>Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental, UNICAMP, Campinas, SP.

Endereço para correspondência: Dr. Edgard Ferro Collares – Departamento de Pediatria – Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP – Cidade Universitária Zeferino Vaz – Barão Geraldo – 13083-970 – Campinas, SP.

e endotélio vascular, respectivamente, e da ONS II (ou i-ONS), induzida pela endotoxina ou citocinas<sup>(13, 25)</sup>.

O azul de metileno (AM) foi considerado e utilizado inicialmente, in vitro, como bloqueador seletivo da guanilato-ciclase em tecido muscular liso<sup>(7, 31)</sup>. Está claro atualmente que também inibe as ONS e inativa diretamente o ON<sup>(21)</sup>. O pré-tratamento com glicocorticóides bloqueia a indução da ONS II nas células endoteliais, musculares lisas, macrófagos e fibroblastos<sup>(13, 19, 29)</sup>. Também os glicocorticóides, de acordo com o tipo, concentração e biodisponibilidade, são potentes inibidores da expressão das citocinas, tanto ao nível de transcrição como após transcrição<sup>(1, 38)</sup>.

Este estudo teve como objetivo avaliar, in vivo, o efeito do pré-tratamento com dexametasona ( $D_{EX}$ ) e com AM sobre o fenômeno de retardo do EG determinado pelo LPS em ratos.

## MATERIALE MÉTODOS

### Animais

Foram utilizados ratos Wistar, machos, “specific patogen free”, com 8-10 semanas de vida, pesando entre 220-280 g, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual de Campinas. Antes do estudo, os animais permaneceram pelo menos 2 semanas adaptando-se às condições do laboratório, com temperatura entre 22°C e 26°C, ritmo de luz e penumbra de 12/12 horas, recebendo ração (Labina, Purina) e água *ad libitum*. No planejamento e execução da pesquisa, foram obedecidas as recomendações do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal).

### Drogas

Foram utilizadas: LPS de *E. coli*, cepa 055:B5 (Sigma), na concentração de 50 µg/mL, solução de  $D_{EX}$  (Decadron, Prodome) na concentração de 3 mg/mL e solução de AM (Sigma) na concentração de 2 mg/mL. Solução salina estéril e livre de pirogênio foi empregada como veículo na preparação das diluições. Em todos os estudos, os volumes do veículo e de cada solução administrada por via iv, utilizando uma das veias da cauda, para cada animal e para cada aplicação, foram equivalentes. A dose de LPS utilizada para o tratamento em todos os estudos foi de 50 µg/kg de peso do animal.

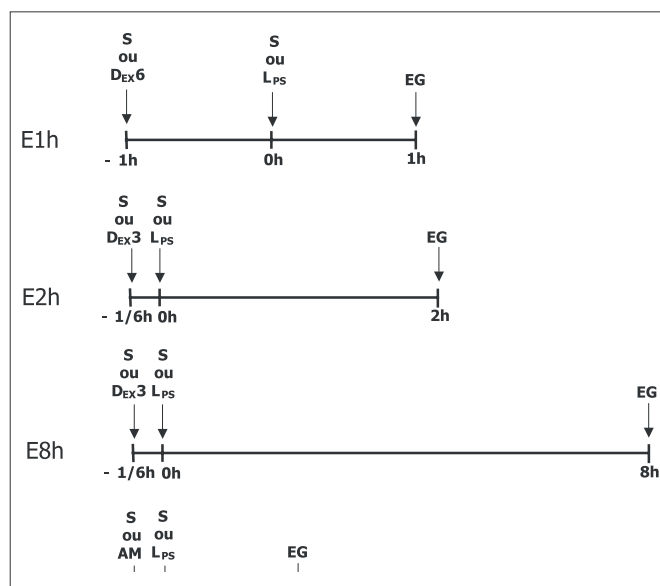
### Delineamento experimental

Os estudos foram realizados entre 14 e 17 h do dia, após 24 horas de jejum alimentar, com os animais tendo livre acesso à água, suspenso no momento da prova.

Foram feitos três estudos do efeito da administração prévia da  $D_{EX}$  (Figura 1). Cada estudo foi formado de um grupo-controle (C) pré-tratado com salina e outro grupo em que o pré-tratamento foi feito com  $D_{EX}$ . No primeiro estudo (E1h) foi utilizado  $D_{EX}$  na dose de 6 mg/kg, o intervalo entre o pré-tratamento e o tratamento foi de 1 hora e a avaliação do EG foi feita 1 hora após o tratamento. Nos segundo e terceiro estudos, empregou-se  $D_{EX}$  3 mg/kg. No segundo estudo, o intervalo de

tempo entre o tratamento e a avaliação do EG foi de 2 horas (E2h) e no terceiro foi de 8 horas (E8h). Nestes dois últimos, o intervalo entre o pré-tratamento e o tratamento foi de 10 minutos. Em cada estudo, cada grupo foi formado de dois subgrupos de oito animais cada: o grupo-controle formado com o subgrupo CS, em que os animais receberam solução salina em duas oportunidades e com o subgrupo  $CL_{PS}$ , em que, após administração de salina, os animais receberam LPS; o grupo pré-tratado com  $D_{EX}$  formado com o subgrupo  $D_{EX}S$ , em que os animais receberam  $D_{EX}$  e, a seguir, solução salina; e com o subgrupo  $D_{EX}L_{PS}$ , em que, após administração da  $D_{EX}$ , os animais receberam LPS. Após intervalo de 1, 2 e 8 horas do tratamento nos estudos E1h, E2h e E8h, respectivamente, foram feitas avaliações do EG.

Na observação do efeito do pré-tratamento com AM (2 mg/kg de peso), os animais foram também divididos em dois grupos: C pré-tratado com salina e outro grupo em que o pré-tratamento foi feito com AM. Cada grupo foi dividido em dois subgrupos de oito animais cada: o C, formado com subgrupo CS, em que os animais receberam salina em duas oportunidades e com o subgrupo  $CL_{PS}$ , onde os animais receberam solução salina e, a seguir, LPS; o grupo pré-tratado com AM foi formado com o subgrupo AMS, em que os animais receberam salina após a administração de solução de AM e com o subgrupo  $AML_{PS}$ , onde os animais receberam LPS após administração do AM. O intervalo entre o pré-tratamento e o tratamento foi de 10 minutos. Uma hora após o tratamento, foi feita avaliação do EG (Figura 1).



**FIGURA 1** – Delineamento experimental. E1h, E2h e E8h = estudos com pré-tratamento com dexametasona; AM = estudo com pré-tratamento com azul de metileno (2 mg/kg, via iv); h = hora; S = salina (veículo);  $D_{EX}3$  e  $D_{EX}6$  = dexametasona 3 e 6 mg/kg, iv, respectivamente;  $L_{PS}$  = lipopolissacarídio bacteriano, 50 µg/kg, iv; EG = esvaziamento gástrico; iv = intravenosa

### Esvaziamento gástrico

Como refeição de prova (RP) foi utilizada solução de NaCl 0,9% (p/v) marcada com fenol vermelho (6 mg/dL). Em todos os experimentos, a determinação do EG foi feita indiretamente, em ratos acordados, através da determinação da percentagem de retenção gástrica (RG) da RP, 10 minutos após sua administração orogástrica, utilizando técnica padronizada no laboratório<sup>(2, 5)</sup>.

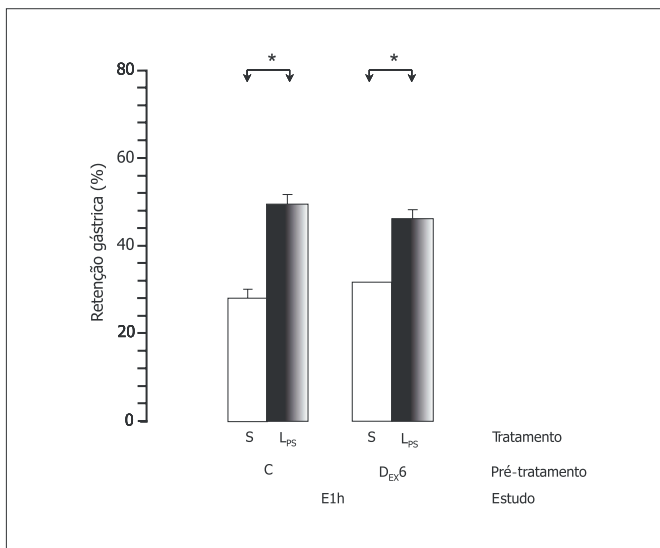
### Análise estatística

Na análise estatística foi empregada ANOVA, seguida, quando indicado, do teste de Tukey na comparação entre os pares. O valor de  $\alpha$  foi estabelecido em 5%.

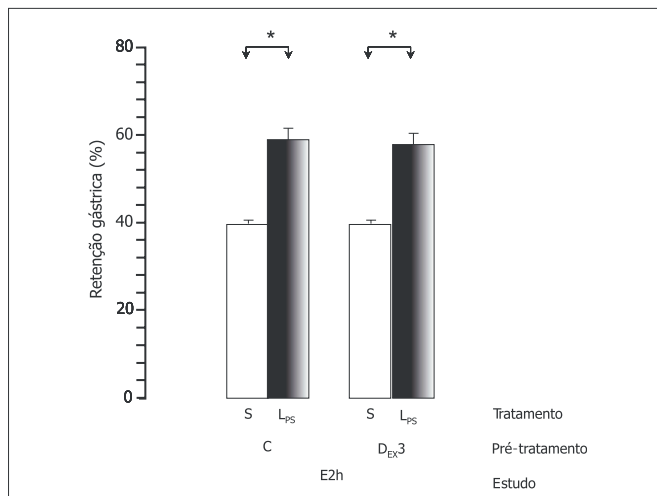
## RESULTADOS

Os resultados da RG são apresentados em média  $\pm$  erro padrão da média (epm) nas Figuras 2, 3, 4, 5.

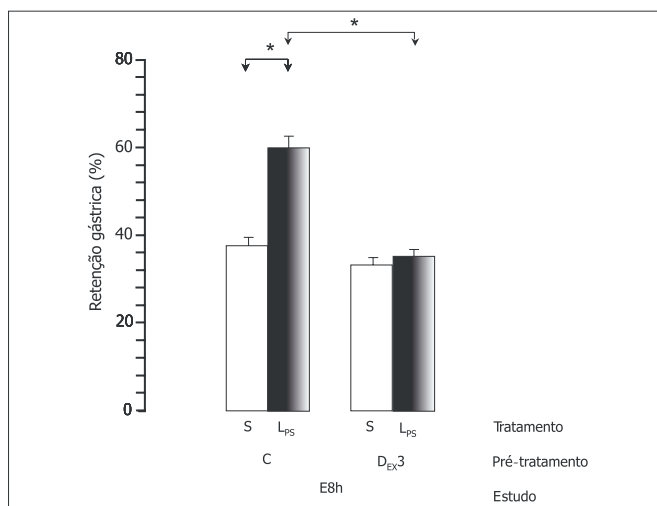
Nos animais pré-tratados com D<sub>EX</sub> ou AM e tratados com salina, os valores da RG não diferiram significativamente dos observados nos seus CS. Em todos os estudos, os animais pré-tratados com salina e tratados com LPS apresentaram valores da RG significativamente mais elevados que aqueles observados nos controles.



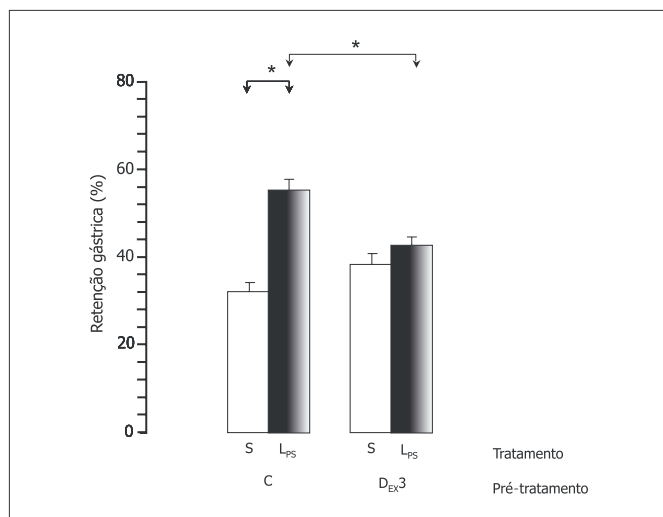
**FIGURA 2** – Retenção gástrica (%) em média  $\pm$  epm (n = 8) de uma refeição de prova salina, 10 minutos após administração orogástrica em ratos (volume de 2 mL/100 g de peso), no estudo E1h. O pré-tratamento foi feito com dexametasona 6 mg/kg (D<sub>EX</sub>6) e no controle (C) com veículo, iv. No tratamento iv foram empregados LPS 50 µg/kg (L<sub>PS</sub>) e o veículo, solução salina (S). O intervalo de tempo entre pré-tratamento e tratamento foi de 1 hora. O estudo do esvaziamento gástrico foi realizado 1 hora (E1h) após o tratamento. \* =  $P < 0,05$  (teste de Tukey).



**FIGURA 3** – Retenção gástrica (%) em média  $\pm$  epm (n = 8) de uma refeição de prova salina, 10 minutos após administração orogástrica em ratos (volume de 2 mL/100 g de peso), no estudo E2h. O pré-tratamento foi feito com dexametasona 3 mg/kg (D<sub>EX</sub>3) e no controle (C) veículo, iv. No tratamento iv foram empregados LPS 50 µg/kg (L<sub>PS</sub>) e o veículo, solução salina (S). O intervalo de tempo entre pré-tratamento e tratamento foi de 10 minutos e o estudo do esvaziamento gástrico foi realizado duas horas (E2h) após o tratamento. \* =  $P < 0,05$  (teste de Tukey).



**FIGURA 4** – Retenção gástrica (%) em média  $\pm$  epm (n = 8) de uma refeição de prova salina, 10 minutos após administração orogástrica em ratos (volume de 2 mL/100 g de peso), no estudo E8h. O pré-tratamento foi feito com dexametasona 3 mg/kg (D<sub>EX</sub>3) e no controle (C) veículo, iv. No tratamento iv foram empregados LPS 50 µg/kg (L<sub>PS</sub>) e o veículo, solução salina (S). O intervalo de tempo entre pré-tratamento e tratamento foi de 10 minutos e o estudo do esvaziamento gástrico foi realizado 8 horas (E8h) após o tratamento. \* =  $P < 0,05$  (teste de Tukey).



**FIGURA 5** – Retenção gástrica (%) em média  $\pm$  epm (n = 8) de uma refeição de prova salina, 10 minutos após administração orogástrica em ratos (volume de 2 mL/100 g de peso). O pré-tratamento iv foi feito com azul de metileno 2 mg/kg (AM) e o controle (C) com veículo. No tratamento via iv foram empregados LPS 50 mg/kg ( $L_{ps}$ ) e o veículo, solução salina (S). O intervalo entre pré-tratamento e tratamento foi de 10 minutos e entre tratamento e a avaliação da retenção gástrica de 1 hora. \* =  $P < 0,05$  (teste de Tukey).

Constatou-se que em E1h e E2h (Figuras 2, 3), o pré-tratamento com  $D_{EX}$ , mesmo com dose mais elevada ou até 2 horas após a administração do LPS, não interferiu no retardo do EG induzido pela endotoxina. Os valores da RG no subgrupo  $D_{EX}L_{ps}$  não diferiram significativamente dos observados no subgrupo que não recebeu  $D_{EX}$  (subgrupo  $CL_{ps}$ ). No estudo E8h (Figura 4), o glicocorticóide reduziu significativamente a RG induzida pela endotoxina ( $D_{EX}L_{ps}$  vs  $CL_{ps}$ ) indicando bloqueio do efeito do LPS sobre o EG. O resultado no subgrupo  $D_{EX}L_{ps}$  também não diferiu significativamente do observado no respectivo controle (subgrupo  $D_{EX}S$ ).

Na Figura 5, são apresentados os resultados da RG no estudo do efeito do AM. Pode ser observado que administração prévia de AM reduziu significativamente a RG da refeição, nos animais tratados com endotoxina ( $AML_{ps}$  vs  $CL_{ps}$ ). A redução do efeito da endotoxina foi suficiente para que o subgrupo  $AML_{ps}$  não diferisse significativamente do seu controle (subgrupo AMS).

## DISCUSSÃO

Os sintomas como anorexia, náuseas, vômitos e saciedade precoce são manifestações comuns nos processos infecciosos. Acompanhando estes sintomas, tem sido observado retardo do EG que, em parte, pode explicá-los. A indução desta alteração funcional do estômago em

animais, com o emprego do LPS, vem sendo utilizada como modelo de estudo dos mecanismos envolvidos no retardo do esvaziamento em infecções<sup>(8, 20)</sup>. Contudo, até o momento, possivelmente em razão da complexidade do fenômeno, estes mecanismos não estão claramente definidos. Como fator adicional que dificulta o entendimento, destaca-se nos estudos disponíveis na literatura a falta de uniformidade quanto às doses de LPS, às vias de administração e ao momento em que foram feitas as observações in vivo ou in vitro, dificultando a comparação dos resultados.

É conhecido que a endotoxina estimula a síntese ou a liberação de várias citocinas da fase aguda da infecção ou injúria<sup>(4, 12, 18, 39)</sup>. Recentemente, HERMANN et al.<sup>(17)</sup>, estudando o efeito da endotoxina iv sobre o EG, após 60 minutos, concluíram que o fenômeno de retardo seria consequência da ação do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) sobre o complexo dorsal do vago. Observações indicam que a dexametasona liga-se preferentemente a receptores tipo II e suprimem o aparecimento do fator de necrose tumoral (TNF)<sup>(37, 38)</sup>. Entretanto, o efeito máximo de supressão foi demonstrado quando o intervalo entre a administração da dexametasona e o LPS foi de 5 horas<sup>(37)</sup>. Sendo assim, como nos estudos E2h e E1h o pré-tratamento com o corticoesteróide foi feito 10 minutos e 1 hora antes do tratamento, respectivamente, o fenômeno poderia ser imputado à ação do TNF- $\alpha$  no sistema nervoso central (SNC), como sugerido por HERMANN et al.<sup>(17)</sup>.

Contudo, há indicações de que a via aferente vagal é rota de atuação das citocinas no SNC<sup>(22)</sup>. Como evidência da possibilidade de participação desta via, foi observado recentemente que a abolição da via sensitiva aferente do vago, com capsaicina, bloqueia o efeito da endotoxina sobre o EG de sólidos em ratos<sup>(6)</sup>.

Em contradição com o que aqui foi encontrado, TURNER e BERRY<sup>(36)</sup>, utilizando intervalos de tempos semelhantes, demonstraram em camundongos, utilizando cortisona, bloqueio do efeito no EG da administração intraperitoneal de uma suspensão morta de *S. typhimurium*. Levando em conta a via de administração e a natureza do estímulo, é provável que esses tenham interferido num fenômeno diferente do aqui estudado.

Por outro lado, o pré-tratamento com AM diminuiu significativamente o efeito do LPS sobre EG, 1 hora após o tratamento. Como o AM bloqueia de forma não específica a geração e ação do ON<sup>(21, 27)</sup>, este resultado sugere a participação, numa condição não-fisiológica, in vivo, deste gás no efeito da endotoxina sobre o esvaziamento. Numa primeira possibilidade, o ON seria gerado no sistema vascular, através da ativação da ONS III constitutiva. O LPS em doses extremamente elevadas via iv (mais de 200 vezes em relação à empregada neste estudo) determina agudamente, em ratos, hipotensão arterial sistêmica e diminuição da reatividade vascular aos vasoconstritores. Este efeito é bloqueado com emprego de um antagonista de L-arginina, sugerindo a participação da ONS III<sup>(16, 34)</sup>. Esta possibilidade, contudo, parece pouco provável,

visto que a hipotensão arterial, em conseqüência à perda aguda de volume sangüíneo em ratos, aumenta o EG<sup>(14)</sup>. Sendo assim, uma segunda possibilidade é que a geração do ON seja decorrente da atividade da ON-sintetase constitutiva ONS I, ativada via não-adrenérgica não-colinérgica.

Em adição, foi também observado no presente estudo, que a D<sub>EX</sub> foi capaz de inibir o efeito mais tardio da toxina (8 horas após), sugerindo que, nesta fase, há necessidade da indução de um sistema que envolva ativação ou síntese. Sendo assim, estes resultados poderiam ser interpretados como devidos exclusivamente à supressão das citocinas pelo corticoesteróide, tendo como conseqüência a ausência de estímulo inibitório via vago e/ou circulatória do SNC. Contudo, a supressão mais efetiva das citocinas só foi conseguida com a administração crônica ou quando o intervalo entre a administração da D<sub>EX</sub> e o LPS foi de horas<sup>(26, 37)</sup>.

Há muitas evidências que sugerem que este efeito tardio da D<sub>EX</sub> seria decorrente da supressão da produção de ONS II. Assim, o pré-tratamento com D<sub>EX</sub> bloqueia a expressão desta enzima no endotélio vascular de ratos tratados com endotoxina<sup>(19, 29)</sup>. No estômago, foi demonstrada in vitro a indução desta enzima, utilizando preparações

isoladas de fundo gástrico de ratos, incubadas durante 6 horas com LPS, indução esta bloqueada, acrescentando ao banho um inibidor de síntese protéica<sup>(32)</sup>. Posteriormente, foi demonstrado o mesmo efeito in vivo empregando o pré-tratamento com aminoguanidina, inibidor específico da ONS II<sup>(33)</sup>. Sendo assim, a liberação de ON nas células musculares lisas do estômago seria responsável pelo retardo do EG observado 8 horas após a administração do LPS. Outra possibilidade seria através da ativação da ONS II em macrófagos da submucosa gástrica, determinando o relaxamento da camada muscular circular adjacente, como já demonstrado in vitro<sup>(40)</sup>. Como o estômago proximal, que inclui o fundo gástrico, participa do EG de líquidos<sup>(30)</sup>, o efeito tardio do LPS, no presente estudo, poderia ser devido à liberação de ON neste segmento.

Recentemente, um estudo in vitro sugere que, adicionalmente, o LPS determinaria, pelo menos em parte, retardo do EG em conseqüência da inibição do relaxamento não-adrenérgico não-colinérgico e aumento da resposta à estimulação muscarínica do piloro<sup>(11)</sup>.

Como conclusão, os resultados obtidos nesta pesquisa sugerem a possibilidade do envolvimento do óxido nítrico no retardo do EG produzido pelo LPS in vivo, inicialmente através da ativação da ON-sintetase constitutiva (ONS I) e, tardiamente, da induzida (ONS II).

---

Collares EF, Vinagre AM. The effect of bacterial lipopolysaccharide on the gastric emptying of rats: a pretreatment evaluation using dexamethasone and methylene blue. *Arq Gastroenterol* 2003;40(2):104-109.

**ABSTRACT – Background** – The nitric oxide might be a putative mediator of the decrease in gastric emptying induced by bacterial lipopolysaccharide in rats. **Aim** – For that, we evaluated the effect of the pretreatment intravenous with dexamethasone and methylene blue in the retardation process of gastric emptying induced by intravenous application of lipopolysaccharide in rats. Dexamethasone has been shown to inhibit the induction of NOS II (induced NO-synthase) while the methylene blue, that blocks the soluble guanylyl cyclase, inhibits nitric oxide synthases and, in addition, inactivates nitric oxide directly. **Material and Methods** – Male Wistar rats, specific pathogen free, were used after a 24 hour fast and 1 hour-water withdrawn. The pretreatment was performed using dexamethasone solutions (3 and 6 mg/kg), methylene blue (2 mg/kg) or sterile vehicle. The treatment consisted in the application of lipopolysaccharide (50 µg/kg) or vehicle. The time period between the pretreatment and treatment was 10 minutes, excluding the study with dexamethasone 6 mg/kg that was 1 hour. The gastric emptying was evaluated 1 hour after the lipopolysaccharide application, except for two studies with dexamethasone 3 mg/kg in which the time periods were 2 and 8 hours. A saline solution containing phenol red was used as the test meal. The gastric emptying was determined by measuring gastric retention 10 minutes after the orogastric infusion of the test meal. **Results** – The pretreatment with dexamethasone or methylene blue and treatment with vehicle did not have effect in the gastric emptying comparing to the control group. We found that pretreatment with dexamethasone in the studies for 1 hour and 2 hours did not interfere in the retardation of the gastric emptying produced by endotoxin. Nevertheless, in the eighth period study with this drug there was a significant reduction of gastric retention in the endotoxin-treated animals in relation to the unpretreated ones. Meanwhile, the pretreatment with the methylene blue completely blocked the action of endotoxin on the gastric emptying in rats. **Conclusion** – These results suggest a possible involvement of nitric oxide on the effect of lipopolysaccharide in rat gastric emptying.

**HEADINGS** – Gastric emptying. Lipopolysaccharides. Nitric oxide. Dexametasona. Methylene blue. Rats.

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almawi WY, Beyhum HN, Rahme AA, Rieder MJ. Regulation of cytokine and cytokine receptor expression by glucocorticoids. *J Leukoc Biol* 1996;60:563-72.
2. 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 orogástrica. *Arq Gastroenterol* 1991;28:145-50.
3. Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Bogers JJ, Bult H, Man JG, Oosterbosch L, Herman AG, Van Maercke YM. Release of nitric oxide upon stimulation of nonadrenergic noncholinergic nerves in rat gastric fundus. *J Pharmacol Exp Ther* 1991;256:441-7.
4. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991;115:457-69.
5. Bucarechi F, Collares EF. Effect of *Phonetria nigriventer* spider venom on gastric emptying in rats. *Braz J Med Biol Res* 1996;29:205-11.

6. Calatayud S, Barrachina MD, Garcia-Zaragoza E, Quintana E, Esplugues JV. Endotoxin inhibits gastric emptying in rats via a capsaicin-sensitive afferent pathway. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2001;363:276-80.
7. Christinck F, Jury J, Cayabyab F, Daniel EE. Nitric oxide may be the final mediator of nonadrenergic, noncholinergic inhibitory junction potentials in the gut. *Can J Physiol Pharmacol* 1991;69:1448-58.
8. Collares EF. Effect of bacterial lipopolysaccharide on gastric emptying of liquids in rats. *Braz J Med Biol Res* 1997;30:207-11.
9. Collares EF. Effect of tolerance to bacterial lipopolysaccharide on gastric emptying in rats. *Arq Gastroenterol* 1997;34:227-9.
10. Desai KM, Sessa WC, Vane JR. Involvement of nitric oxide in the reflex relaxation of the stomach to accommodate food or fluid. *Nature* 1991;351:477-9.
11. Fan Y-P, Chakder S, Gao F, Rattan S. Inducible and neuronal nitric oxide synthase involvement in lipopolysaccharide-induced sphincteric dysfunction. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;280:G32-G42.
12. Fink MP. Gastrointestinal mucosal injury in experimental models of shock, trauma, and sepsis. *Crit Care Med* 1991;19:627-41.
13. Förstermann U, Gath I, Schwarz P, Closs EI, Kleinert H. Isoforms of nitric oxide synthase. Properties, cellular distribution and expressional control. *Biochem Pharmacol* 1995;50:1321-32.
14. Gondim F de-AA, de-Oliveira GR, Graça JRV, Cavalcante DIM, Souza MAN, Santos AA, Rola FH. Variations in gastric emptying of liquid elicited by acute blood volume changes in awake rats. *Braz J Med Biol Res* 1998;31:967-73.
15. Goyal RK. Targets of enteric motor neurones: smooth muscle cells. *Gut* 2000;47 Suppl IV:iv38-iv9.
16. Gray GA, Schott C, Julou-Schaeffer G, Fleming I, Parratt JR, Stoclet J-C. The effect of inhibitors of L-arginine/nitric oxide pathway on endotoxin-induced loss of vascular responsiveness in anaesthetized rats. *Br J Pharmacol* 1991;103:1218-24.
17. Hermann GE, Tovar CA, Rogers RC. Induction of endogenous tumor factor- $\alpha$ : suppression of centrally stimulated gastric motility. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1999;276:R59-R68.
18. Kluger MJ. Fever: role of pyrogens and cryogens. *Physiol Rev* 1991;71:93-127.
19. Knowles RG, Salter M, Brooks SL, Moncada S. Anti-inflammatory glucocorticoids inhibit the induction by endotoxin of nitric oxide synthase in the lung, liver and aorta of the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;172:1042-8.
20. Langhans W, Harlacher R, Balkowski G, Scharrer E. Comparison of the effects of bacterial lipopolysaccharide and muramyl dipeptide on food intake. *Physiol Behav* 1990;47:805-13.
21. Lohse MJ, Förstermann U, Schmidt HHHW. Pharmacology of NO:cGMP signal transduction. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1998;358:111-2.
22. Luheshi GN, Hammond E, Van Dam AM. Cytokines as messengers of neuroimmune interactions. *Trends Neurosci* 1996;19:46-7.
23. Makhoulouf GM, Grider JR. Nonadrenergic noncholinergic inhibitory transmitters of the gut. *News Physiol Sci* 1993;8:195-9.
24. Martins SR, Bicudo R, Oliveira RB, Ballejo G. Evidence for the participation of the L-arginine-nitric oxide pathway in neurally induced relaxation of the isolated rat duodenum. *Braz J Med Biol Res* 1993;26:1325-35.
25. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329:2002-12.
26. Montuschi P, Tringali G, Mirtella A, Parente L, Ragazzoni E, Preziosi P, Navarra P. Interleukin-1b release from rat gastric fundus. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1996;271:G275-G81.
27. Moore PK, Handy RLC. Selective inhibitors of neuronal nitric oxide synthase- is no NOS really good NOS for the nervous system? *Trends Pharmacol Sci* 1997;18:204-11.
28. Oliveira RB, Matsuda NM, Antonioli AR, Ballejo G. Evidence for the involvement of nitric oxide in the electrically induced relaxations of human lower esophageal sphincter and distal pylorus. *Braz J Med Biol Res* 1992;25:853-5.
29. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:10043-7.
30. Read NW, Houghton LA. Physiology of gastric emptying and pathophysiology of gastroparesis. *Gastroenterol Clin North Am* 1989;18:359-404.
31. Stark ME, Szurszewski JH. Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. *Gastroenterology* 1992;103:1928-49.
32. Takakura K, Goto Y, Muramatsu I. Nitric oxide synthase induction and relaxation in lipopolysaccharide-treated gastric fundus muscle of rats. *Life Sci* 1996;58:9-17.
33. Takakura K, Hasegawa K, Goto Y, Muramatsu I. Nitric oxide produced by inducible nitric oxide synthase delays gastric emptying in lipopolysaccharide-treated rats. *Anesthesiology* 1997;87:652-7.
34. Thiemeermann C, Vane J. Inhibition of oxide synthesis reduces the hypotension induced by bacterial lipopolysaccharides in the rat in vivo. *Eur J Pharmacol* 1990;182:591-5.
35. Thiemeermann C. Nitric oxide and septic shock. *Gen Pharmacol* 1997;29:159-66.
36. Turner MM, Berry LJ. Inhibition of gastric emptying in mice by bacterial endotoxins. *Am J Physiol* 1963;205:1113-6.
37. Waage A. Production and clearance of tumor necrosis factor in rats exposed to endotoxin and dexamethasone. *Clin Immunol Immunopathol* 1987;45:348-55.
38. Wilckens T. Glucocorticoids and immune function: physiological relevance and pathogenic potential of hormonal dysfunction. *Trends Pharmacol Sci* 1995;16:193-7.
39. Wong M-L, Bongiorno PB, Rettori V, McCann SM, Licinio J. Interleukin (IL) 1b, IL-1 receptor antagonist, IL-10, and IL-13 gene expression in the central nervous system and anterior pituitary during systemic inflammation: pathophysiological implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:227-32.
40. Zheng X-L, Sharkey KA, Hollenberg MD. Induction of nitric oxide synthase in rat gastric smooth muscle preparations. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1997;273:G1101-G7.

Recebido em 14/3/2002.  
Aprovado em 6/2/2003.