

## Efectos de la pilocarpina sobre el sistema cardiovascular y respiratorio

### *Effects of pilocarpine on the cardiovascular and respiratory system*

Pedro Braz de Lucena-Neto<sup>1a</sup>, Lysien Ivania Zambrano<sup>2b</sup>, Paulina Maria Pompermayer Coradelli<sup>4c</sup>, Leia Cardoso-Sousa<sup>3d</sup>, Stephanie Wutke Oliveira<sup>3e</sup>, Robinson Sabino-Silva<sup>3f</sup>, Tales Lyra de Oliveira<sup>4,5g</sup>

#### RESUMEN

**Introducción:** El principal fármaco utilizado para el tratamiento de la xerostomía es la pilocarpina. **Objetivo:** Evaluar las repercusiones cardiopulmonares de la administración intraperitoneal de pilocarpina (2 mg/kg) en ratas Wistar. **El Estudio:** Los animales fueron separados en dos grupos: grupo control (SAL) y grupo tratado con pilocarpina (PILO), y fueron evaluados por medio de la espirometría, electrocardiografía, y el análisis de la perfusión sanguínea en la musculatura periférica en las siguientes situaciones: 1) Basal: sin la realización de estímulos; 2) Estímulo: Salina o Pilocarpina. **Hallazgos:** El grupo PILO presentó disminución de la frecuencia cardíaca y de la frecuencia respiratoria, siendo estadísticamente diferentes, pero no difirió en la ventilación pulmonar y en la perfusión sanguínea periférica en comparación con el grupo SAL. **Conclusiones:** El tratamiento con pilocarpina em una baja dosis llevo a bradipnea y bradicardia em ratas, sin embargo, no se encontró alteraciones en la ventilación pulmonar ni en la perfusión sanguínea periférica.

**Palabras clave:** pilocarpina, xerostomía, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, perfusión (Fuente: DECS-BIREME)

#### ABSTRACT

**Introduction:** The main drug used for the treatment of xerostomia is pilocarpine. **Objective:** To evaluate the cardiopulmonary repercussions of intraperitoneal administration of pilocarpine (2 mg/kg) in Wistar rats. **Method:** Animals were divided into two groups: control group (SAL) and pilocarpine treated group (PILO), and evaluated by means of spirometry, electrocardiography and analysis of blood perfusion in peripheral musculature. The data were evaluated in the following situations: 1) Basal and 2) Stimulation: Saline or Pilocarpine. **Results:** The PILO group had a statistical decrease in heart rate and respiratory rate, but did not alter in pulmonary ventilation and peripheral blood perfusion compared to the SAL group. **Conclusion:** Treatment with pilocarpine at a low dose to induce salivary secretion promoted bradypnea and bradycardia in rats, without repercussion on pulmonary ventilation and peripheral blood perfusion.

**Keywords:** pilocarpine, xerostomia, heart rate, respiratory rate, perfusion (Source: NLM-MeSH)

1. Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Brasil.
2. Departamento de Ciencias Morfológicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Tegucigalpa, Honduras.
3. Departamento de Fisiología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Brasil.
4. Faculdade de Medicina, Universidade Municipal de São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil.
5. Unidade de Hipertensão, Instituto do Coração, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

a. Estudiante de medicina; b. Médico Cirujano, magíster en Ciencias; c. Estudiante de medicina, odontóloga; d. Biomédica, Magister en Ciencias de la Salud; e. Odontóloga; f. Odontólogo, Doctor en Ciencias; g. Fisioterapeuta, Doctor en Ciencias.

#### Citar como:

Lucena-Neto PB, Zambrano LI, Coradelli PMP, et al. Efectos de la pilocarpina sobre el sistema cardiovascular y respiratorio. Rev Hisp Cienc Salud. 2019; 5(2):63-69

## INTRODUCCIÓN

La saliva desempeña un papel esencial en el control de la homeostasis oral, así como en la protección de la dentadura, debido a sus propiedades lubricantes y antimicrobianas, además de actuar en la gustación, en las etapas iniciales de la digestión y en el proceso del habla <sup>(1, 2)</sup>. La saliva se compone principalmente por agua, asociada a electrolitos y a componentes orgánicos <sup>(3)</sup>. La salivación está bajo control del sistema nervioso autónomo, por lo tanto, la activación simpática causa vasoconstricción en las glándulas salivares, secreción por las células acinosas y contracción de las células mioepiteliales, resultando en la producción de un pequeño volumen de saliva rica en proteínas <sup>(4)</sup>. Por otro lado, la activación de la inervación parasimpática para las glándulas salivares causa vasodilatación, secreción acuosa en mayor volumen por las células acinares y contracción de las células mioepiteliales, resultando en la producción de un gran volumen de saliva, pero con baja concentración de proteínas <sup>(4)</sup>.

El sistema nervioso parasimpático actúa en receptores muscarínicos, distribuidos en todo el organismo, sobre todo en las glándulas salivares y corazón, promoviendo el control de la secreción de líquidos y de la frecuencia cardíaca, respectivamente. Entre los fármacos agonistas colinérgicos, vale destacar la pilocarpina, extraída de la planta brasileña *Pilocarpus jaborandi*, produce efectos parasimpaticomiméticos a través de la estimulación directa de los receptores muscarínicos <sup>(5)</sup>. La pilocarpina se utiliza de forma terapéutica en casos bastante específicos, como en el manejo de la odontología, sobre todo en cuadros de hiposalivación, ya que el tratamiento con agonistas colinérgicos usualmente produce aumento de la secreción salivar, reducción de la resistencia vascular periférica y de la presión arterial, caracterizando sus efectos sistémicos <sup>(6)</sup>.

En este contexto, se sabe que la pilocarpina es bastante utilizada para el tratamiento de la xerostomía (sensación de boca seca), generalmente relacionada a la hiposalivación. La hiposalivación tiene efecto directo en la calidad de vida de los pacientes, ya que puede cursar con

erosión dental, caries, halitosis, disfagia e infecciones orales <sup>(7)</sup>. Entre las principales patologías que promueven la reducción de la secreción salivar están el síndrome de Sjogren, la diabetes mellitus, la hipertensión arterial sistémica y el asma bronquial <sup>(8, 9)</sup>. Además, se sabe que diversos fármacos disponibles en el mercado también producen una intensa reducción de la secreción salivar, tales como: alfa bloqueadores, beta bloqueadores, anticolinérgicos y corticoides <sup>(10)</sup>.

La pilocarpina está contraindicada en pacientes asmáticos debido a su acción de constricción de la musculatura lisa de las vías aéreas. Sin embargo, se sabe que individuos asmáticos sin tratamiento y aquellos que reciben la terapia convencional con corticoides y agonistas betaadrenérgicos presentan reducción de la secreción salivar y daños severos en su salud oral <sup>(8)</sup>. Adicionalmente, también ya se conoce que portadores de diabetes mellitus y hipertensión arterial sistémica presentan diversas alteraciones que comprometen el sistema cardiopulmonar <sup>(11)</sup>. En estos casos, se recomienda que la administración de fármacos que provoquen alteraciones cardiopulmonares sea aplicada de forma cuidadosa, minimizando la posibilidad de ocurrencia de eventos cardiovasculares fatales <sup>(10, 11)</sup>.

A partir de la relevancia clínica, el uso de la pilocarpina en modelos animales es ampliamente utilizado para la inducción de la salivación en ratas por medio de su administración intraperitoneal <sup>(20)</sup>, lo que permite estudios que involucra patologías que cursan con hiposalivación y sobre los efectos sistémicos de la pilocarpina. De esta manera, con el fin de contribuir con el conocimiento acerca del manejo adecuado de la pilocarpina en patologías asociadas a la xerostomía, el presente estudio evaluó las repercusiones cardiopulmonares de la administración intraperitoneal de pilocarpina, en una baja dosis, para inducir la secreción salivar, con el objetivo de traer avances significativos para el uso seguro de esta herramienta farmacológica.

### *Animales*

Las ratas Wistar (200-240g) obtenidos del Bioterio Central de la Universidad Federal de Alagoas (UFAL) se mantuvieron en jaulas (04 animales/jaula) con temperaturas controladas ( $21 \pm 2$  °C), ciclo claro/oscuro de 12h y oferta completa de agua y ración para roedores. Este proyecto fue aprobado por la Comisión de Ética en el uso de animales (CEUA) bajo protocolo 64/2013 de la UFAL.

### *Protocolo experimental*

Las ratas fueron separados en dos grupos experimentales independientes (n= 6 animales/grupo): grupo control (SAL) y grupo tratado con pilocarpina (PILO). Los registros fueron evaluados en las siguientes situaciones: 1) Basal: los animales de los dos grupos fueron anestesiados y evaluados sin la realización de estímulos durante 5 min; 2) Estímulo: Salina: los animales del grupo SAL recibieron una inyección de salina (0,9%, i.p) o Pilocarpina: los animales del grupo PILO recibieron una inyección de pilocarpina (2 mg/kg, i.p). Los estímulos fueron evaluados durante 10 min.

Las ratas fueron anestesiadas con tiopental sódico (60 mg/kg, i.p.) y colocados sobre una mesa quirúrgica mantenida en  $37 \pm 0,5$  ° C. Después de la anestesia, se realizó una incisión quirúrgica en la región anterior del cuello del animal para acceso de la tráquea (traqueostomía), así se insertó una cánula (PE-250, Critchley, Australia) para el mantenimiento de la permeabilidad de las vías aéreas.

Para la evaluación de los parámetros ventilatorios, la cánula traqueal fue conectada a un tubo conectado al sensor de flujo del espirómetro (ADInstruments, DE, USA). Por lo tanto, la frecuencia respiratoria, el volumen corriente y el volumen minuto se midieron en unidades convencionales tales como incursiones por minuto (ipm), mililitros (mL) y mililitros por minuto (ml/min), respectivamente. A continuación, estas unidades se transformaron en porcentaje considerando el promedio del primer minuto del período basal como 100%.

Para la evaluación de la frecuencia cardíaca de los animales, tres electrodos del electrocardiograma (ECG) fueron colocados bilateralmente sobre el tórax. Así, la frecuencia cardíaca se midió en latidos por minuto (lpm). A continuación, esa unidad fue transformada en porcentaje considerando la media del primer minuto del período basal como 100%.

Para evaluar la perfusión sanguínea de la musculatura esquelética, el músculo recto femoral fue expuesto por medio de un pequeño acceso quirúrgico a través de la remoción de la piel y tejido subcutáneo. Un sensor láser doppler de acero inoxidable se colocó sobre la porción proximal del músculo recto femoral derecho, sin aplicar ninguna presión sobre el tejido. La perfusión por láser doppler fluxometría (Blood FlowMeter, ADInstruments, DE, USA®) midió la perfusión sanguínea en unidades arbitrarias (ua). A continuación, esa unidad fue transformada en porcentaje considerando la media del primer minuto del período basal como 100%. Por último, todos los datos obtenidos fueron enviados al Power Lab 4/30 Stimulator (ADInstruments, DE, USA®) ya través del software LabChart (ADInstruments, DE, USA®) se obtuvieron los registros de los parámetros cardiovasculares.

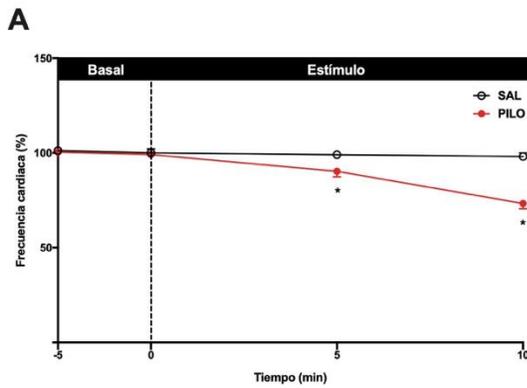
Todos los resultados se expresaron como media  $\pm$  error estándar de la media (EPM) y se compararon mediante la prueba t de Student pareado. Los análisis estadísticos se realizaron con la ayuda del programa computacional GraphPad Prism, v. 7.0 (GraphPad, USA®). El nivel de significancia establecido fue del 5% (\*p <0,05).

## HALLAZGOS

### **Efectos de la PILO sobre la frecuencia cardíaca**

La Figura 1.A muestra que el grupo PILO presentó disminución estadística, de la frecuencia cardíaca en los tiempos 05 y 10 minutos en comparación a su respectiva media del período basal. El grupo SAL no presentó diferencias estadísticas durante los tiempos analizados.

Figura 1A

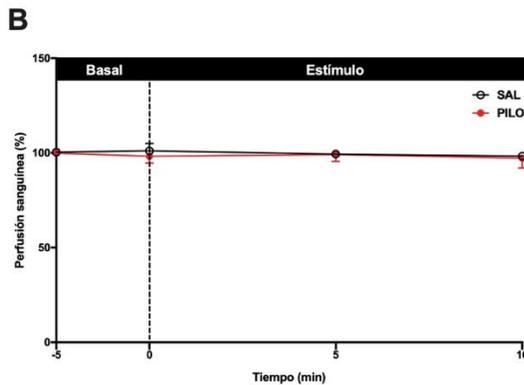


**FIGURA 1.A.** Frecuencia cardíaca del grupo PILO (pilocarpina) y SAL (salina) durante una curva temporal de 15 min por medio de análisis secuenciales de 5 en 5 minutos. Los resultados se presentaron como la media  $\pm$  EPM (n = 6 animales / grupo); \*p<0,05 vs Basal; prueba t de Student pareado.

### Efectos de la PILO sobre la perfusión de la musculatura esquelética

La perfusión del músculo recto abdominal no difirió estadísticamente en los grupos PILO y SAL en comparación con sus respectivas medias del período basal, como puede observarse en la Figura 1B.

Figura 1B

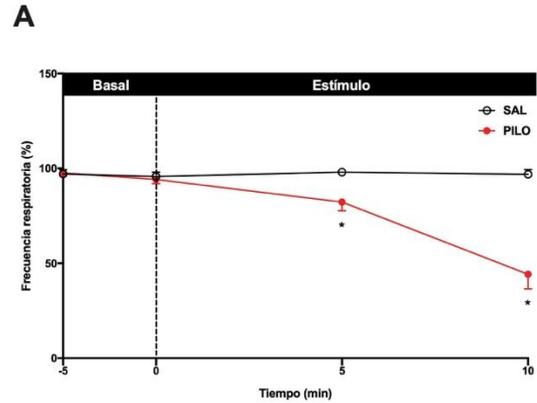


**FIGURA 1B.** Perfusión sanguínea periférica del grupo PILO (pilocarpina) y SAL (salina) durante una curva temporal de 15 min por medio de análisis secuenciales de 5 en 5 minutos. Los resultados se presentaron como la media  $\pm$  EPM (n = 6 animales / grupo); \*p<0,05 vs Basal; prueba t de Student pareado.

### Efectos de la PILO sobre la frecuencia respiratoria

La Figura 2A muestra que el grupo PILO presentó disminución de la frecuencia respiratoria en los tiempos 05 y 10 minutos en comparación a su respectiva media del período basal. El grupo SAL no presentó diferencias estadísticas durante los tiempos analizados.

Figura 2A

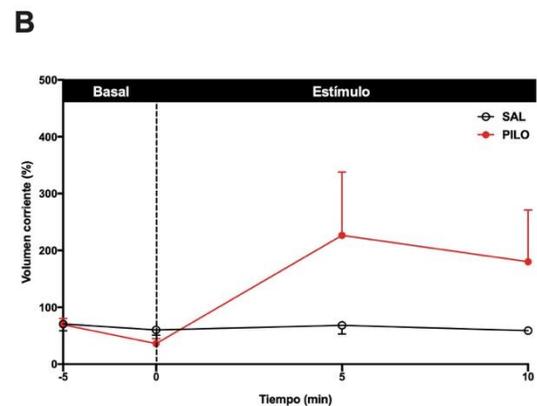


**FIGURA 2.A.** Frecuencia respiratoria del grupo PILO (pilocarpina) y SAL (salina) durante una curva temporal de 15 min por medio de análisis secuenciales de 5 en 5 minutos. Los resultados se presentaron como la media  $\pm$  EPM (n = 6 animales / grupo); \*p<0,05 vs Basal; prueba t de Student pareado.

### Efectos de la PILO sobre el volumen corriente

El volumen corriente no difirió estadísticamente en los grupos PILO y SAL en comparación a sus respectivas medias del período basal, como puede observarse en la Figura 2B.

Figura 2B



**FIGURA 2.B.** Volumen corriente del grupo PILO (pilocarpina) y SAL (salina) durante una curva temporal de 15 min por medio de análisis secuenciales de 5 en 5 minutos. Los resultados se presentaron como la media  $\pm$  EPM (n = 6 animales / grupo); \*p<0,05 vs Basal; prueba t de Student pareado.

### Efectos de la PILO sobre el volumen minuto

El volumen minuto no difirió estadísticamente en los grupos PILO y SAL en comparación con sus respectivos promedios del período basal, como puede observarse en la Figura 2.C.

Figura 2C

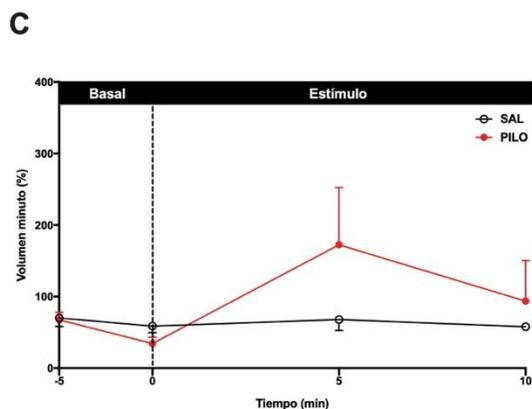


FIGURA 2.C. Volumen minuto del grupo PILO (pilocarpina) y SAL (salina) durante una curva temporal de 15 min por medio de análisis secuenciales de 5 en 5 minutos. Los resultados se presentaron como la media  $\pm$  EPM ( $n = 6$  animales / grupo); \* $p < 0,05$  vs Basal; prueba t de Student pareado.

## DISCUSIÓN

Diversas patologías, así como el uso de algunos tipos de fármacos, pueden desencadenar un efecto colateral bastante indeseado, la hiposalivación y la xerostomía<sup>(12)</sup>. La hiposalivación comprende la disminución de la producción de saliva, mientras que el término xerostomía se refiere a la sensación de boca seca. Las causas más comunes de hiposalivación incluyen: medicamentos (fármacos anticolinérgicos, antidepresivos, diuréticos y sedantes), tratamiento radioterápico en la región de cara y de cuello, además de algunas patologías y síndromes<sup>(13)</sup>. El tratamiento de las manifestaciones clínicas de la hiposalivación puede dividirse en dos categorías: 1) sialagogos sistémicos y 2) agentes tópicos, de modo que el principal fármaco con acción sistémica utilizado para el tratamiento de la hiposalivación es la pilocarpina<sup>(14, 15)</sup>. La dosis inicial recomendada para el tratamiento con pilocarpina en humanos es de 5 mg/día, pudiendo alcanzar una dosis máxima de 30 mg/día<sup>(14)</sup>. La pilocarpina promueve la

salivación por la conexión al receptor muscarínico del tipo  $M_3$  en las células acinares de las glándulas salivales<sup>(16)</sup>. Sin embargo, la pilocarpina debe administrarse con precaución en pacientes con enfermedades cardiovasculares, ya que tiene importantes efectos sistémicos como bradicardia y broncoconstricción<sup>(17)</sup>. Desde el punto de vista pulmonar, la pilocarpina actúa como agonista muscarínico de los receptores  $M_3$  presentes en el pulmón<sup>(18-19)</sup>, desencadenando la contracción de la musculatura lisa de las vías aéreas, promoviendo la disminución del volumen corriente y de la frecuencia respiratoria. De forma interesante, los resultados del presente estudio mostraron una reducción significativa de la frecuencia respiratoria después de la estimulación con pilocarpina. Sin embargo, incluso con la reducción de la frecuencia respiratoria, no hubo perjuicio sistémico para el organismo, ya que no hubo alteración del volumen corriente y del volumen minuto, con consecuente ausencia de alteraciones de la perfusión tisular

En cuanto a los efectos cardiovasculares, la pilocarpina es conocida por presentar actividad agonista sobre los receptores muscarínicos del tipo  $M_2$  presentes en la musculatura cardíaca. Debido a que estos receptores muscarínicos están acoplados a la proteína G<sup>(18, 19)</sup>, se espera que la pilocarpina ejerza una reducción de la frecuencia cardíaca. De este modo, el análisis de los signos electrocardiográficos de los animales tratados con pilocarpina mostró una reducción significativa en la frecuencia cardíaca, comprobando así su potencial efecto para simpaticomimético en el miocardio.

Sin embargo, a pesar de la constatación de la reducción de la frecuencia cardíaca después de la administración aguda y sistémica de pilocarpina, no se observaron cambios significativos en la perfusión de la musculatura esquelética, a través del registro de la perfusión del músculo recto femoral, durante todo el período de análisis. En cuanto a la reducción de la presión arterial, la disminución del flujo sanguíneo en la microcirculación, se cree que la bradicardia generada por la administración de pilocarpina, de modo agudo, promovió reducción de la presión de perfusión y menor

flujo de oxígeno en la musculatura analizada, produciendo una vasoconstricción compensatoria que, en el período analizado, fue capaz de mantener la perfusión tisular, sin cambios significativos.

## CONCLUSIÓN

El tratamiento con pilocarpina de forma aguda, en baja dosis, por vía intraperitoneal promueve bradicardia y bradipnea, sin embargo, no ocasiona alteraciones en la ventilación pulmonar ni en la perfusión sanguínea periférica.

## LIMITACIONES DEL ESTUDIO Y PERSPECTIVAS

La necesidad de sedación de los animales para análisis de los parámetros cardiopulmonares constituye una limitación al estudio, visto su interferencia sobre el sistema cardiopulmonar (depresión). Sin embargo, se debe considerar que todos los grupos experimentales se sometieron a los mismos efectos, por lo que, si hubo alguna interferencia, probablemente fue similar para todos los grupos. Como perspectivas, consideramos que los resultados obtenidos en el desarrollo de esta investigación son prometedores y traen subsidios importantes sobre la interferencia de la pilocarpina en el sistema cardiopulmonar, lo que contribuye al avance de nuevas estrategias terapéuticas.

## Contribuciones de los Autores

Lucena-Neto PB colecta de datos, concibió la hipótesis de la investigación y escribió el manuscrito. Zambrano LI ayudó en la discusión de los resultados, en el análisis estadístico y en la redacción del manuscrito. Coradelli PMP, Cardoso-Sousa L y Oliveira SW ayudaron en la recolección de datos y en la redacción del manuscrito. Sabino-Silva R y Oliveira TL estuvieron involucrados en la concepción y diseño del estudio, concibió la hipótesis de la investigación, revisó y editó el manuscrito. Todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito final.

## Conflictos de interés

Los autores niegan tener conflictos de interés

## Financiamiento

Este estudio fue financiado por la Coordinación de Perfeccionamiento de Personal de Nivel Superior (CAPES) - Código Financiero 001.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ying Joanna ND, Thomson WM. Dry mouth - An overview. *Singapore Dent J.* 2015;36:12-7.
2. Chojnowska S, Baran T, Wilinska I, Sienicka P, Cabaj-Wiater I, Knas M. Human saliva as a diagnostic material. *Adv Med Sci.* 2018;63(1):185-91.
3. Saleh J, Figueiredo MA, Cherubini K, Salum FG. Salivary hypofunction: an update on aetiology, diagnosis and therapeutics. *Arch Oral Biol.* 2015;60(2):242-55.
4. Garrett JR. The proper role of nerves in salivary secretion: a review. *J Dent Res.* 1987;66(2):387-97.
5. Ferguson M. Pilocarpine and other cholinergic drugs in the management of salivary gland dysfunction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 1993;75(2):186-91.
6. Dowd FJ. Cholinergic Agonists and Muscarinic Receptor Antagonists. *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry* 2017. p. 82-97.
7. Han P, Suarez-Durall P, Mulligan R. Dry mouth: a critical topic for older adult patients. *J Prosthodont Res.* 2015;59(1):6-19.
8. Paganini M, Dezan CC, Bichaco TR, de Andrade FB, Neto AC, Fernandes KB. Dental caries status and salivary properties of asthmatic children and adolescents. *Int J Paediatr Dent.* 2011;21(3):185-91.
9. Quock RL. Xerostomia: current streams of investigation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2016;122(1):53-60.
10. Wiseman LR, Faulds D. Oral pilocarpine: a review of its pharmacological properties and clinical potential in xerostomia. *Drugs.* 1995;49(1):143-55.
11. Lehnen AM, Leguisamo NM, Casali KR, Schaan BD. Progressive cardiovascular autonomic dysfunction in rats with evolving metabolic syndrome. *Auton Neurosci.* 2013;176(1-2):64-9.

12. Turner MD. Hyposalivation and Xerostomia: Etiology, Complications, and Medical Management. *Dent Clin North Am.* 2016;60(2):435-43.
13. Guggenheimer J, Moore PA. Xerostomia. *The Journal of the American Dental Association.* 2003;134(1):61-9.
14. Millsop JW, Wang EA, Fazel N. Etiology, evaluation, and management of xerostomia. *Clin Dermatol.* 2017;35(5):468-76.
15. Radvansky LJ, Pace MB, Siddiqui A. Prevention and management of radiation-induced dermatitis, mucositis, and xerostomia. *Am J Health Syst Pharm.* 2013;70(12):1025-32.
16. Fox RI, Kontinen Y, Fisher A. Use of muscarinic agonists in the treatment of Sjogren's syndrome. *Clin Immunol.* 2001;101(3):249-63.
17. Villa A, Connell CL, Abati S. Diagnosis and management of xerostomia and hyposalivation. *Ther Clin Risk Manag.* 2015;11:45-51.
18. Tangsucharit P, Takatori S, Zamami Y, Goda M, Pakdeechote P, Kawasaki H, et al. Muscarinic acetylcholine receptor M1 and M3 subtypes mediate acetylcholine-induced endothelium-independent vasodilatation in rat mesenteric arteries. *J Pharmacol Sci.* 2016;130(1):24-32.
19. Brown SM, Koarai A, Sturton RG, Nicholson AG, Barnes PJ, Donnelly LE. A role for M(2) and M(3) muscarinic receptors in the contraction of rat and human small airways. *Eur J Pharmacol.* 2013;702(1-3):109-15.
20. Romero AC, Bergamaschi CT, de Souza DN, Nogueira FN. Salivary Alterations in Rats with Experimental Chronic Kidney Disease. *PLoS One.* 2016;11(2):e0148742.

**Correspondencia:**

Tales Lyra de Oliveira

Email: [tales.oliveira@prof.uscs.edu.br](mailto:tales.oliveira@prof.uscs.edu.br)

