



**ROZEMEIRE GARCIA MARQUES**

**MODELO DE ESTUDO DA MOTILIDADE GASTROINTESTINAL UTILIZANDO A ELETROMIOGRAFIA (EMG) E A BIOSUSCEPTOMETRIA AC (BAC) EM RATOS NORMAIS, DESNUTRIDOS E DIABÉTICOS INDUZIDOS PELA ALOXANA.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bases Gerais da Cirurgia, da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – Área de Concentração em Agressão e Injúria Tecidual, para obtenção do Título de Doutor.

**Orientador: Prof. Titular César Tadeu Spadella**

**Co-orientador: Prof Adj. José Ricardo de Arruda Miranda**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU**

Botucatu

2011

**ROZEMEIRE GARCIA MARQUES**

**MODELO DE ESTUDO DA MOTILIDADE GASTROINTESTINAL UTILIZANDO A ELETROMIOGRAFIA (EMG) E A BIOSUSCEPTOMETRIA AC (BAC) EM RATOS NORMAIS, DESNUTRIDOS E DIABÉTICOS INDUZIDOS PELA ALOXANA.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bases Gerais da Cirurgia, da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – Área de Concentração em Agressão e Injúria Tecidual, para obtenção do Título de Doutor.

**Orientador: Prof. Titular César Tadeu Spadella**

**Co-orientador: Prof Adj. José Ricardo de Arruda Miranda**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU**

Botucatu

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Marques, Rozemeire Garcia.

Modelo de estudo da motilidade gastrointestinal utilizando a eletromiografia (EMG) e a biosusceptometria AC (BAC) em ratos normais, desnutridos e diabéticos induzidos pela aloxana / Rozemeire Garcia Marques. - Botucatu, 2011

Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu,  
Universidade Estadual Paulista, 2011

Orientador: César Tadeu Spadella

Co-orientador: José Ricardo de Arruda Miranda

Capes: 40102149

1. Diabetes - Estudos experimentais. 2. Aloxana. 3.  
Biomagnetismo.

Palavras-chave: Aloxana; Biomagnetismo; Diabetes mellitus;  
Desnutrição; Eletromiografia.



## *Dedicat6rias*

*"Os nossos pais amam-nos porque somos seus filhos, é um fato inalterável. Nos momentos de sucesso, isso pode parecer irrelevante, mas nas ocasiões de fracasso, oferecem um consolo e uma segurança que não se encontram em qualquer outro lugar." Bertrand Russel*

*Aos meus pais Luiz e Nadir, que me deram a vida e o prazer de ser sua filha, sem os quais eu jamais chegaria até aqui.*

*Ao meu irmão Luiz Jr. e Cornélia, pelos três presentes divinos, Alexander, Victoria e Philip; pelo apoio, amor e presença constante na minha vida, mesmo a distância.*

*Ao meu querido Flávio, pelo amor e companheirismo nos momentos mais difíceis.*



*Homenagens*

**"Para realizar grandes conquistas, devemos não apenas agir, mas também sonhar; não apenas planejar, mas também acreditar."**

*Anatole France*

Ao **Professor Titular César Tadeu Spadella** por me orientar, compartilhar os seus conhecimentos científicos e dividir as dificuldades.

Ao **Professor Adj. José Ricardo de Arruda Miranda**, pelo carinho e paciência com que me acolheu e me introduziu no campo da biofísica.

**"Sentimos saudades de certos momentos de nossa vida e de certos momentos de pessoas que passaram por ela"**

*Carlos Drummond de Andrade*

Ao **Professor Dr. Arion Caio Paulino** (*in memoriam*), um dos meus principais pilares de formação profissional, sempre amigo e disposto a ensinar e dividir seus conhecimentos.



## *Agradecimientos*



*"É rara a verdadeira gratidão, porque são raros os genuínos benfeitores."  
Marquês de Maricá*

## Agradecimentos

Agradeço a Deus sempre por tudo.

"Não cruze os braços diante uma dificuldade, pois o maior homem do mundo morreu de braços abertos" Bob Marley.

Ao amigo e **Professor Dr. Bonifácio Katsumori Takegawa**, por sempre me ensinar e orientar nas etapas deste trabalho.

Ao amigo e **Professor Dr. José Lúcio Martins Machado**, que me incentivou abrindo as portas para o início deste trabalho.

A amiga e **Professora Dra. Erika Veruska Paiva Ortolan**, pelo apoio diário, e orientação nas diversas etapas deste trabalho.

Ao amigo **Dr. Marco Antônio Rodrigues**, pelo incentivo neste trabalho.

Ao amigo **Dr. Pedro Luiz Toledo de Arruda Lourenção** pelo carinho e constante ajuda no decorrer deste trabalho.

As amigas **Dra. Cristina Zugaiar Santos Sampaio** e a **Professora Dra. Márcia Riromi Henna** pelo imenso apoio, durante todas as etapas deste trabalho.

Ao meu grande amigo **Professor Dr. Uilian de Andreis** o qual sempre me auxiliou com muito carinho, apoio e dedicação, o meu eterno agradecimento.

A amiga **Professora Dra. Madileine Francely Américo**, pela dedicação e amor que me ajudou a conduzir este trabalho, nos mais variados momentos, meu eterno agradecimento.

Aos amigos **Luciana Aparecida Corá, Fabiano Carlos Paixão, Murilo Stelzer** pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Minha profunda gratidão a **todos** que, direta ou indiretamente, ajudaram na elaboração deste trabalho. Em especial:

A **Dra. Adriana Polachini do Valle**, médica responsável pelo Laboratório Clínico do HC-Unesp Botucatu, pela franquia do laboratório para a realização das dosagens bioquímicas deste trabalho.

À bióloga **Maria Salete Sartori** e às funcionárias **Maria de Fátima Aparecida Biazon e Maria Luísa dos Santos**, pela realização das dosagens bioquímicas do estudo.

À bióloga **Amanda Natália Lucchesi**, aluna do curso de Doutorado, do Programa de Pós-Graduação em Bases Gerais da Cirurgia, da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, pela ajuda na obtenção dos parâmetros clínicos e laboratoriais em gaiolas metabólicas.

Ao Sr. **Danilo Chaguri**, funcionário do Laboratório de Cirurgia Experimental, do Departamento de Cirurgia e Ortopedia, da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, pelos serviços prestados e ajuda inestimável na realização das etapas experimentais deste trabalho, bem como nos cuidados dispensados aos animais.

Aos **demais funcionários** do Laboratório de Cirurgia Experimental, do Departamento de Cirurgia e Ortopedia, da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, que colaboraram direta e indiretamente na realização das etapas experimentais deste trabalho.

A Sra. **Janete Aparecida Herculano, Regina Célia Spadim, Nathanael Pinheiro Salles, Lilian Cristina Nadal Bianchi Nunes e Andrea Paula Longo Devidé**, funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, pela atenção especial no atendimento e solução dos assuntos relativos a realização da defesa pública do meu Exame de Qualificação e desta tese.

A Sra. **Simone Barroso Corvino Camargo**, da Seção de Pós-Graduação do Departamento de Cirurgia e Ortopedia, por todo o auxílio e dedicação nos momentos solicitados.

A Sra. **Rosemeire Aparecida Vicente**, funcionária da Divisão de Biblioteca e Documentação do Campus de Botucatu – UNESP, pela ajuda na confecção da ficha catalográfica.



*Resumo*

## Resumo

**Objetivo:** O objetivo desse trabalho foi desenvolver um modelo experimental de análise da motilidade do Trato gastrointestinal (TGI) com potencialidades para caracterizar a atividade elétrica e mecânica do estômago e do cólon de ratos normais, diabéticos induzidos pela aloxana e desnutridos, por restrição alimentar, utilizando a eletromiografia (EMG) e a biosusceptometria AC (BAC). **Método:** Ratos adultos, machos, da linhagem Wistar foram distribuídos, por sorteio, em três grupos experimentais pareados: Grupo controle - constituído de 20 animais normais, saudáveis, não diabéticos; Grupo diabético - constituído de 20 animais diabéticos induzidos pela aloxana, não tratados; Grupo desnutrido - constituído de 20 animais desnutridos por restrição alimentar. Cada um destes três grupos experimentais foi subdividido, por sorteio, em dois subgrupos de ratos, compostos por 10 animais cada um, para serem avaliados e sacrificados em 2 momentos distintos do experimento, 1 mês e 6 meses de seguimento. As cirurgias de implantação do conjunto eletrodo/marcador magnético na serosa gástrica e do cólon, para obtenção dos registros elétricos e mecânicos, foram realizadas respectivamente após 1 mês e 6 meses de seguimento normal, diabético e de desnutrição. Os parâmetros avaliados foram: 1) Clínicos (peso corporal, ingestão hídrica, ingestão alimentar e diurese); 2) Laboratoriais (glicemia de jejum, hemoglobina glicosilada, insulina plasmática, proteínas totais e albumina); 3) Análise da atividade elétrica e mecânica do estômago e do cólon através da EMG e da BAC. **Resultados:** 1) a média da frequência de contração gástrica não foi alterada significativamente entre os animais normais, desnutridos e diabéticos, tanto nas avaliações feitas pela BAC, como pela EMG; 2) a regularidade no sinal da atividade de contração gástrica em ratos diabéticos, no 1º mês de seguimento, e principalmente no 6º mês, se mostrou muito alterada quando comparada aos ratos normais e desnutridos, em ambas as técnicas; 3) houve aumento das médias da frequência e amplitude de contração no estado pós-prandial, em relação ao jejum, em ratos normais, diabéticos e desnutridos, nos dois períodos de seguimento, em ambas as técnicas; 4) o coeficiente de variação na contração gástrica foi discretamente aumentado no grupo diabético nas duas técnicas empregadas; 5) o pico de contração dominante na FFT (Fast Fourier Transform) foi muito parecido em ratos normais, desnutridos e diabéticos. Nestes últimos, as ondas registradas possuíam bases muito alargadas, devido à grande

variabilidade de frequências encontradas durante o tempo de registro, nos ratos normais e desnutridos. Por outro lado, observou-se que o perfil de registro eletromecânico obtido foi quase que exclusivamente formado por uma frequência dominante, notando-se um pico com base estreita; 6) os valores da razão A/J (relação entre a intensidade da contração no período alimentado e jejum) foram menores para os diabéticos e desnutridos, no 6º mês de seguimento, registrados por ambas as técnicas, principalmente na BAC. Essa razão reflete a baixa variação em amplitude registrada quando uma refeição padronizada foi ingerida pelos animais em relação ao jejum; 7) a baixa frequência de contrações gástricas (em torno de 1,3 cpm) foi registrada e quantificada em todos os animais, destacando-se pela alta amplitude; 8) o Índice de Anormalidade da Ritmicidade (IAR) da contração gástrica de ratos diabéticos, no período pós-prandial, foi significativamente ( $P < 0,05$ ) maior em relação aos animais normais e desnutridos, nos dois períodos analisados do experimento na BAC; 9) o IAR da contração gástrica, observado pela EMG, foi significativamente maior ( $P < 0,001$ ) em animais diabéticos, quando comparado com animais normais e desnutridos, no 6º mês de seguimento do estudo; 10) as frequências de contrações cecais foram mais elevadas durante o período pós-prandial quando comparadas ao jejum, em todos os grupos analisados, tanto pela BAC quanto pela EMG, sendo os resultados significante apenas no 1º mês de seguimento; 11) a amplitude das contrações cecais expressa pela razão entre os períodos alimentado/jejum (A/J) foi muito menor para ratos diabéticos do que a observada nos grupos normal e desnutrido, em ambos os seguimentos, sobretudo nos registros eletromecânicos obtidos no 6º mês, por ambas as técnicas. No 6º mês de estudo, a amplitude das contrações cecais registrada pela BAC e pela EMG, durante o jejum, foi maior do que a observada no período alimentado; 12) houve tendência de diminuição da frequência e amplitude da contração cecal em ratos diabéticos, porém, os resultados não foram estatisticamente significantes quando comparados com ratos normais e desnutridos; 13) as frequências de contração gástrica e cecal, nos três grupos estudados se comportaram de modo semelhante, no entanto, significante apenas no 6º mês de seguimento. **Conclusão:** 1) O modelo de estudo da motilidade do trato gastrointestinal (TGI) proposto neste trabalho, utilizando a biosusceptometria AC (BAC) e a eletromiografia (EMG) se revela suficientemente adequado para monitorar direta e continuamente as contrações da parede gástrica e cecal de ratos, sendo de fácil reprodutibilidade, aplicação e

acurácia, em diferentes estados prandiais; 2) Ratos diabéticos induzidos pela aloxana apresentam alterações da motilidade gástrica e cecal, caracterizadas por ondas de contração de padrão morfológico irregular, com oscilação de frequências dominantes, com alto coeficiente de variação (CV) e elevada razão de amplitude, nos períodos de jejum e pós-prandial (A/J); 3) Nas condições do presente experimento, a desnutrição associada ao diabetes descompensado não assume qualquer grau de responsabilidade pelas alterações da motilidade do TGI encontradas em animais diabéticos.

**Palavras-chave:** Aloxana; Biomagnetismo; Diabetes Mellitus; Desnutrição; Eletromiografia; Trato gastrointestinal.



*Abstract*

## Abstract

**Objective:** The objective of this study was to develop an experimental model for analyzing the motility of the gastrointestinal tract (TGI) with potential to characterize the electrical and mechanical activity of stomach and colon of normal rats, alloxan induced diabetic and undernourished by food restriction, using electromyography (EMG) and biosusceptometry AC (BAC). **Method:** Adult male rats, lineage Wistar, were divided by sorting into three groups matched: Control group - consisting of 20 normal animals were healthy, nondiabetic; diabetic group - consisting of 20 rats with alloxan induced diabetic untreated; Malnourished group - consisting of 20 malnourished rats by dietary restriction. Each of these three groups was divided by sort into two subgroups of rats, consisting of 10 animals each to be evaluated and sacrificed at two different times of the experiment, 1 month and 6 months of follow up. A surgical implantation of electrode assembly / magnetic marker in gastric serosa and colonic to obtain electric and mechanical records, were held respectively at 1 month and 6 months of normal follow-up, diabetic and malnutrition. The parameters were evaluated: 1) Clinical (body weight, water intake, food intake and urine output), 2) Laboratory (fasting glucose, glycated hemoglobin, plasma insulin, total protein and albumin), 3) Analysis of electrical and mechanical activity of stomach and colon by EMG and the BAC. **Results:** 1) the average frequency of gastric contraction was not altered significantly between the normal animals, malnourished and diabetic, both the assessments made by the BAC, as the EMG, 2) the regularity of signal activity of gastric contraction in diabetic rats, at 1 month follow-up, especially at 6 months, was greatly altered compared to normal rats and malnourished, with both techniques, 3) An increased the mean frequency and amplitude of contraction in the postprandial state, compared to fasting in normal rats, diabetic and undernourished, in both follow-up periods in both techniques. 4) the coefficient of variation in gastric contraction was slightly increased in the diabetic group in both techniques, 5) the peak contraction in the dominant FFT (Fast Fourier Transform) was very similar in normal rats, undernourished and diabetic. In the latter, the waves recorded had very extensive basis, due to the large variability of frequencies encountered during the recording time, in normal rats and malnourished. Moreover, we observed that the electromechanical registration profile obtained was almost exclusively composed of a dominant frequency, noting a peak with a narrow base, 6) the values of ratio A / J (the ratio between the intensity of contraction in fed and fasting period) were lower for diabetics, malnourished, at 6<sup>th</sup> month of follow-up, recorded by both techniques,



mainly in the BAC. This ratio reflects the low variation in amplitude recorded when a standard meal was ingested by animals in relation to fasting, 7) the low frequency of gastric contractions (about 1.3 cpm) was recorded and quantified in all animals, especially by high amplitude, 8) the Abnormality of the Rhythmicity Index (ARI) contraction of the stomach of diabetic rats in the postprandial period was significantly ( $P < 0.05$ ) higher than normal and malnourished animals, in both periods analyzed the experiment in the BAC, 9) ARI contraction of the stomach, observed by EMG, was significantly higher ( $P < 0.001$ ) in diabetic animals compared with normal animals and malnourished, at 6 month follow-up study, 10) frequencies contractions caecal were higher during the postprandial period compared to fasting in all groups by both the BAC and the EMG and the results were significant only at first month follow-up; 11) the amplitude of contractions caecal expressed by ratio between the periods fed / fasting ( $A / J$ ) was much lower for diabetic rats than that observed in normal and malnourished groups, in both segments, especially in electro records obtained at 6th months, for both techniques. At 6 months of study, the amplitude of contractions caecal recorded by the BAC and the EMG during fasting was higher than that observed during feeding, 12) has had a tendency to decrease the frequency and amplitude of contraction cecal in diabetic rats, but the results were not statistically significant when compared with normal rats and malnourished, 13) the frequency of gastric and cecal contraction, the three groups behaved similarly, however, significant only at 6th months of follow up. Conclusion: 1) The model for studying the motility of the gastrointestinal (GI) proposed in this work, using biosusceptometry AC (BAC) and electromyography (EMG) appears adequate enough to monitoring directly and continuously the contractions of the gastric wall and cecum of rats, with easy reproducibility, accuracy and application in different postprandial states, 2) alloxan induced diabetic rats show changes of gastric motility and cecal characterized by waves of contraction of irregular morphology, with dominant oscillation frequency, with high coefficients of variation (CV) and high amplitude ratio during periods of fasting and postprandial ( $A / J$ ) 3) In the present experimental conditions, malnutrition associated with uncontrolled diabetes assumes no responsibility for the degree of changes in motility of the gut found in diabetic animals.

**Keywords:** Alloxan; Biomagnetism; Diabetes Mellitus; Malnutrition; Electromyography; gastrointestinal tract.



*Lista de Tabelas*

<b>Tabela 1:</b> Médias $\pm$ desvios-padrão da evolução do peso corporal (g) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento. ....	28
<b>Tabela 2:</b> Médias $\pm$ desvios-padrão da evolução da ingestão hídrica (ml/24h) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento. ....	29
<b>Tabela 3:</b> Médias $\pm$ desvios-padrão da evolução da ingestão alimentar (g/12h) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento. ....	30
<b>Tabela 4:</b> Médias $\pm$ desvios-padrão da evolução da diurese (ml/24h) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento. ....	31
<b>Tabela 5:</b> Médias $\pm$ desvios-padrão da evolução da glicose plasmática (mg/dL) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento. ....	32
<b>Tabela 6:</b> Médias $\pm$ desvios-padrão da evolução da glicosúria (mg/dL) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento. ....	33
<b>Tabela 7:</b> Médias $\pm$ desvios-padrão da evolução da hemoglobina glicosilada (%) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento. ....	34
<b>Tabela 8:</b> Médias $\pm$ desvios-padrão da evolução da insulina plasmática ( $\mu$ UI/ml) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento. ....	35
<b>Tabela 9:</b> Médias $\pm$ desvios-padrão da concentração de proteínas totais (g/dl) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento. ....	36
<b>Tabela 10:</b> Médias $\pm$ desvios-padrão da concentração de albumina (g/dl) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento. ....	37
<b>Tabela 11:</b> Média da frequência de contração gástrica em ciclos por minuto (cpm) e coeficiente de correlação obtidos pela BAC e EMG de ratos normais (controle), diabéticos e desnutridos nos dois períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos. ....	44
<b>Tabela 12:</b> Índice de anormalidade na ritmicidade (IAR) de contração gástrica obtido para a BAC e EMG em ratos normais (controle) e diabéticos nos dois períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos. ....	47
<b>Tabela 13:</b> Média da amplitude de contração gástrica (V.s) e relação entre intensidades registradas durante o período alimentado e jejum (A/J) obtidos pela	

BAC e EMG de ratos normais (controle), diabéticos e desnutridos nos dois períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos..... 50

**Tabela 14:** Média da frequência de contração cecal em ciclos por minuto (cpm) e coeficiente de correlação obtidos pela BAC e EMG de ratos normais (controle), diabéticos e desnutridos nos dois períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos ..... 55

**Tabela 15:** Média da amplitude de contração cecal (V.s) e relação entre intensidades registradas durante o período alimentado e jejum (A/J) obtidos pela BAC e EMG de ratos normais (controle), diabéticos e desnutridos nos dois períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos..... 58



*Lísta de Figuras*

<b>Figura 1:</b> Diagrama representativo das várias etapas do delineamento experimental do estudo.....	18
<b>Figura 2:</b> Ilustração esquemática da implantação dos eletrodos e dos marcadores magnéticos, para obtenção dos registros EMG e BAC (A), Conexão EMG e Ferrita no ceco (B), estômago proximal e distal(C).....	20
<b>Figura 3:</b> Sistemas transdutores de BAC com um (A) e com sete (B) canais. São destacadas nas ilustrações as bobinas excitadoras (1) e as detectoras (2).....	24
<b>Figura 4:</b> Diagrama em blocos do sistema BAC .....	24
<b>Figura 5:</b> Evolução do peso (g) dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos. ....	28
<b>Figura 6:</b> Evolução da Ingestão hídrica (ml/24h) dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.....	29
<b>Figura 7:</b> Evolução da Ingestão alimentar (ml) dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.....	30
<b>Figura 8:</b> Evolução da diurese (ml) dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.....	31
<b>Figura 9:</b> Médias das concentrações de glicose plasmática dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.....	32
<b>Figura 10:</b> Médias das concentrações de glicosúria dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.....	33
<b>Figura 11:</b> Médias das concentrações de Hemoglobina Glicosilada dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.....	34
<b>Figura 12:</b> Médias das concentrações de Insulina dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.....	35
<b>Figura 13:</b> Evolução da concentração de proteínas totais (g/dl) dos animais dos 3 grupos experimentais, nos períodos analisados: 1 e 6 meses de seguimento.....	36
<b>Figura 14:</b> Evolução da concentração de albumina (g/dl) dos animais dos 3 grupos experimentais, nos períodos analisados: 1 e 6 meses de seguimento.....	37
<b>Figura 15:</b> Registros obtidos pela BAC (preto) e pelo EMG (azul) no estômago distal de ratos do grupo controle e grupo diabético nos períodos analisados: 1 e 6 meses	

após o início do experimento. No painel direito observa-se a distribuição em frequência da contração gástrica obtida nesses registros ..... 39

**Figura 16:** Registros obtidos pela BAC (preto) e pelo EMG (azul) no estômago distal de ratos do grupo normal e grupo desnutrido nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início do experimento. No painel direito observa-se a distribuição em frequência da contração gástrica obtida nesses registros (em torno de 0,065 Hz ou 4,0 cpm)..... 40

**Figura 17:** Registros obtidos pela BAC (preto) e pelo EMG (azul) no estômago distal de ratos do grupo diabético e grupo desnutrido nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início do experimento. No painel direito observa-se a distribuição em frequência da contração gástrica obtida nesses..... 41

**Figura 18:** Índice de anormalidade na ritmicidade (IAR) de contração gástrica obtido para a BAC e EMG nos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos. .... 46

**Figura 19:** Médias das Amplitudes de contrações gástricas (cpm) na AUC-BAC e AUC-EMG nos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos. .... 49

**Figura 20:** Dois exemplos diferentes (A e B) de registros cecais não filtrados obtidos pela BAC (preto) e EMG (azul) em animais do grupo controle. Nota-se a diferença na morfologia entre sinais mecânicos e elétricos, bem como uma alta coincidência temporal entre ambos os eventos. .... 52

**Figura 21:** Sinal típico após filtragem obtido no ceco pela BAC (preto) e EMG (azul) em animais do grupo controle, nos dois períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos. No painel direito observa-se a distribuição em frequência da contração gástrica obtida nesses registros (em torno de 0,02 Hz ou 1,2 cpm). .... 52

**Figura 22:** Exemplo de um registro simultâneo da atividade gástrica e cecal em ratos diabéticos analisados no mês 6, obtidos pela BAC (preto) e EMG (azul). No painel direito observa-se a sobreposição de duas distribuições em frequência representando contrações do ceco (em torno de 0,02 Hz ou 1,2 cpm) e do estômago (em torno de 0,06 Hz ou 3,6 cpm) em um mesmo registro. .... 53

**Figura 23:** Médias das frequências de contrações (cpm) na BAC e EMG cecal nos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos..... 54

**Figura 24:** Médias das Amplitudes de contrações cecal (cpm) na AUC-BAC e AUC-EMG nos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos ..... 57





*Lista de Abreviaturas,  
Siglas e Símbolos*

## Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

$(\chi_m)$	Susceptibilidade magnética
AUC	Área sob a curva (Area under curve)
BAC	Biosusceptometria de correntes alternadas
CEC	Complexo elétrico de contração
CEEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
cpm	Contrações por minuto
CV	Coeficiente de variação
DM1	Diabetes Mellitus tipo 1
ECA	Atividade elétrica de controle
EGG	Eletrogastrografia
EMG	Eletromiografia
ERA	Atividade elétrica de resposta
fem	Força eletromotriz
FFT	Transformada rápida de Fourier (Fast Fourier Transform)
GMC	Contrações gigantes migratórias
GPD	Gastroparesia diabética
IAR	Índice de anormalidade da ritmicidade
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
M0	Momento inicial corresponde à avaliação no 14 <sup>o</sup> dia.
M1	Momento 1 corresponde à avaliação no 1 <sup>o</sup> mês de seguimento.
M2	Momento 2 corresponde à avaliação no 6 <sup>o</sup> mês de seguimento.
Razão A/J	Relação entre a intensidade de contração no período alimentado/jejum
TGI	Trato gastrointestinal



## *Sumário*

# Sumário

DEDICATÓRIAS.....	IV
HOMENAGENS.....	VI
AGRADECIMENTOS .....	VIII
RESUMO.....	I
ABSTRACT .....	V
LISTA DE TABELAS .....	VIII
LISTA DE FIGURAS .....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS .....	XV
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>2</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>12</b>
2.1. GERAL .....	12
2.2. ESPECÍFICOS .....	12
<b>3. MATERIAL E MÉTODO.....</b>	<b>14</b>
3.1. ANIMAIS.....	14
3.2. AMBIENTE DE EXPERIMENTAÇÃO, PROFILAXIA E TRATAMENTO DE INFECÇÕES .....	14
3.3. DISTRIBUIÇÃO E SORTEIO DOS ANIMAIS.....	15
3.4. GRUPOS EXPERIMENTAIS .....	15
3.5. MOMENTOS DE AVALIAÇÃO E SACRIFÍCIO .....	16
3.6. PARÂMETROS ANALISADOS.....	16
3.7. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	17
3.8. TÉCNICAS UTILIZADAS .....	18
3.8.1. Indução do diabetes experimental.....	18
3.8.2. Indução da desnutrição .....	19
3.8.3. Obtenção de parâmetros clínicos em gaiolas metabólicas.....	19
3.8.4. Obtenção dos parâmetros bioquímicos .....	19
3.8.5. Implante cirúrgico dos eletrodos e do marcadores magnéticos.....	19
3.8.6. Obtenção dos sinais elétricos e mecânicos.....	21
3.8.7. Sistema para medidas da atividade mioelétrica (EMG).....	21
3.8.8. Processamento de Sinais.....	21
3.8.9. Análise de frequência .....	22
3.8.10. Análise da amplitude .....	23
3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	25

<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>27</b>
4.1. ACHADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS.....	27
4.2. ANÁLISE DOS SINAIS ELETROMECÂNICOS OBTIDOS PELA BAC E EMG.....	38
4.2.1. Pré-análise qualitativa da contração gástrica.....	38
4.3. AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA FREQUÊNCIA DE CONTRAÇÃO GÁSTRICA E DO COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV).....	42
4.3.1. Índice de anormalidade na ritmicidade da contração gástrica (IAR).....	45
4.3.1. Amplitude da contração gástrica.....	48
4.4. PRÉ-ANÁLISE QUALITATIVA DA CONTRAÇÃO DO CECO.....	51
4.4.1. Avaliação quantitativa da frequência de contração colônica (ceco).....	53
4.4.2. Amplitude da contração do ceco.....	56
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>60</b>
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	<b>72</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>74</b>



## *Introdução*

### 1. INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus (DM) é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Atinge pessoas de todas as faixas etárias, em países de todos os níveis de desenvolvimento (FAGOT – CAMPAGNA et al., 2005, DAGOGO-JACK et al., 2006; NARAYANAN et al., 2010; van DIEREN, 2010).

No Brasil, segundo estudo multicêntrico realizado ao final da década de 1980 (MALERBI & FRANCO, 1992) estimou-se uma prevalência média de diabetes, em nove capitais brasileiras, da ordem de 7,6% das pessoas adultas, situadas na faixa etária dos 30 aos 69 anos de idade. Destas, observou-se que 50% desconheciam completamente a sua condição de doente, sendo provavelmente identificadas através de uma complicação da doença.

Dados do IBGE, de 2007, estimaram uma prevalência de diabetes no Brasil, para todas as idades, de 5,9% da população, que extrapolados para a população brasileira apurada no último censo nacional, realizado em 2010, corresponderia a mais de 11 milhões de pacientes diabéticos no país (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2010).

O diabetes é tido, hoje, como uma epidemia mundial, traduzindo-se em grande desafio para os sistemas de saúde de todo o mundo. O envelhecimento da população, a urbanização crescente e a adoção de estilos de vida pouco saudáveis, como o sedentarismo, a dieta inadequada e a obesidade, são os grandes responsáveis pelo aumento da incidência e prevalência do diabetes em todo o mundo (BRASIL, 2006, 2008).

Nos Estados Unidos, a doença atinge cerca de 23,6 milhões de americanos, com mais de 1,6 milhões de novos casos diagnosticados todos os anos. Naquele país, 174 bilhões de dólares foram gastos, em 2007, com o diagnóstico e tratamento da doença e suas complicações (VARAS-LORENZO et al., 2006; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2010; SAYDAH & LOCHNER, 2010).

Estudo realizado, em 2004, a partir de dados epidemiológicos sobre o diabetes, de 191 países membros da Organização Mundial de Saúde, projetou, para 2030, uma prevalência global de diabetes, de 4,4% da população mundial, que extrapolados ao crescimento populacional deverá atingir um total de 366 milhões de pacientes diabéticos (WILD et al., 2004).

A morbidade decorrente do DM implica em elevados custos econômicos para os países e, também, em incomensuráveis danos físicos, psíquicos e sociais para os indivíduos acometidos, em virtude das complicações crônicas da moléstia sobre os vasos, olhos, rins, nervos e outros órgãos do paciente diabético (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2007; MÖLLSTEN ET AL., 2010; ZHANG et al., 2010)

Anormalidades da motilidade gastrointestinal também têm sido descritas em indivíduos diabéticos, em consequência do acometimento do sistema nervoso autônomo. A aplicação de novas técnicas de registro tem demonstrado que as anormalidades motoras causadas por esta doença ocorrem frequentemente em toda a extensão do trato gastrointestinal (TGI), levando a sintomas digestivos, desnutrição e alterações no controle da glicemia e na absorção de drogas (HOROWITZ et al., 1989; 2002).

Distúrbios da motilidade gástrica ocorrem em 30-50% dos pacientes portadores de DM de longa duração (LONG et al., 2004). Uma das principais desordens motoras associadas ao diabetes é a gastroparesia. Esta anormalidade foi descrita pela primeira vez por KASSANDER, em 1958, e pode também ser observada em outras doenças (ISHIGUCHI et al, 2002).

A gastroparesia pode ser definida como um atraso no esvaziamento gástrico, decorrente da irregularidade da atividade motora no TGI. O estudo desses parâmetros (atividade de contração e trânsito gastrintestinal) é, portanto, imprescindível para a compreensão fisiopatológica da doença, seu diagnóstico e possíveis tratamentos.

Os fatores etiopatogênicos mais comumente implicados na gastroparesia diabética (GPD) são a neuropatia autonômica e alterações na secreção de hormônios envolvidos na regulação da função digestiva:

O componente neurológico seria o fator mais importante, uma vez que, na maioria dos portadores da GPD, comprova-se a presença de neuropatia autonômica e neuropatia periférica. A melhora dos sintomas com o uso de agentes colinérgicos evidencia o provável papel patogênico do sistema nervoso autônomo.

No entanto, discute-se a importância da perda da função vagal na patogênese dessa complicação, uma vez que a vagotomia cirúrgica promove o esvaziamento gástrico para líquidos, fato não observado na GPD. Isso sugere a implicação de outros mecanismos na gênese da GPD. A hiperglicemia retarda o esvaziamento



gástrico, tanto em indivíduos normais como em diabéticos. HOROWITZ encontrou relação inversa entre o esvaziamento gástrico e a glicemia, quando esta ultrapassa 180mg/dL. A atividade contrátil interdigestiva é inibida nos estados hiperglicêmicos, podendo levar à retenção de material não digerível na luz gástrica.

Não foi observada correlação entre níveis de hemoglobina glicosilada e o grau de gastroparesia, sugerindo que a contratilidade gástrica seria mais afetada pelas variações agudas da glicemia do que pelos estados hiperglicêmicos mantidos.

Discute-se o papel da insulinopenia na GPD. A insulina promove o esvaziamento gástrico, provavelmente, por aumento do tônus vagal, enquanto que o glucagon tem efeito contrário. Um estado insulinopênico em indivíduos diabéticos, associado à presença de glucagon, poderia contribuir para a redução da motilidade gástrica.

Sabe-se, porém, que a hiperglicemia diminui o esvaziamento gástrico (EG) em pacientes com diabetes (FRASER et al., 1990). Por outro lado, pacientes que exercem o controle da glicemia geralmente apresentam um EG normal (CHANG et al., 1996). A hiperglicemia também promove um aumento das ondas de pressão pilórica, quando comparados aos pacientes saudáveis normoglicêmicos (FRASER et al., 1991).

Entretanto, homens e animais diabéticos frequentemente apresentam desnutrição associada ao diabetes, especialmente quando metabolicamente descompensados. A desnutrição, porém, primariamente afeta a motilidade do TGI, acarretando diminuição do peristaltismo intestinal (MUGHAL & MEGUID, 1987) e maior incidência de deiscências e fístulas de anastomoses, em indivíduos operados (MULLEN, 1981).

Também é conhecido que a restrição de nutrientes afeta rapidamente a divisão de células e pode gerar uma limitação irreversível no crescimento do órgão e de suas funções motoras (PAULA et al., 2005). Numerosos estudos indicam que a deficiência proteica produz alterações no metabolismo da glicose, traduzida, geralmente, por uma intolerância aumentada à glicose (YOUNG & DIXIT, 1980). É desconhecido, no entanto, o mecanismo pelo qual a desnutrição afeta o pâncreas e a motilidade intestinal (DIXIT & KAUNG, 1985), havendo, por isto, um grande interesse de nosso grupo de pesquisa em analisar comparativamente parâmetros

bioquímicos e a motilidade intestinal em animais normais, desnutridos e diabéticos, de mesma idade e períodos de seguimento e duração do diabetes.

Temos por hipótese, porém, de que os efeitos negativos do DM sobre a motilidade gastrointestinal, eventualmente podem se somar aos da desnutrição, sendo necessário, portanto, definir o grau de responsabilidade destas afecções na gênese das alterações encontradas.

A motilidade gastrointestinal promove a mistura e a propulsão do alimento através do tubo digestivo, facilitando a sua absorção. As inter-relações entre a taxa de esvaziamento, o tempo de trânsito do alimento e a frequência de contração em cada segmento do TGI são imprescindíveis no processo digestivo, e seu funcionamento integrado é modulado por fatores miogênicos, químicos e neurais (SARNA, 1985; RAO & SCHULZE-DELRIEU, 1993; CAMILLERI, 2006).

É importante lembrar que o TGI promove um processamento mecânico do alimento adaptado ao tipo de dieta ingerida. Assim, variações na composição da dieta, podem gerar alterações na motilidade, e também no fluxo de alimentos através do trato digestório (DRESSMAN, 1986).

No estômago, existe uma atividade elétrica rítmica que ocorre de modo onipresente e coordenado nas camadas musculares lisas, circular e longitudinal. Essa atividade, conhecida como atividade elétrica de controle (ECA), ou onda lenta, é gerada e propagada pelas células intersticiais de Cajal (HORIGUCHI et al., 2001; SANDERS; KOH; WARD, 2006). A ECA existe em todo o TGI, embora cada segmento apresente uma frequência específica. A contração muscular só acontece quando um potencial de ação (atividade elétrica de resposta – ERA), disparado por um neurotransmissor, incide sobre o platô de uma onda lenta de controle (REDDY; COLLINS; DANIEL, 1987). Assim, cada segmento do TGI tem o número máximo de contrações associado à sua frequência de ondas lentas. O acoplamento entre as células musculares lisas permite que atuem em uníssono, gerando uma contração mecanicamente efetiva e que se propaga aboral e circunferencialmente (RAO & SCHULZE-DELRIEU, 1993). No homem a frequência de contração gástrica é de aproximadamente 3 cpm (ciclos por minuto).

No cólon, a motilidade intestinal se processa pela capacidade de contrair e relaxar a sua musculatura para misturar e propelir o material fecal ao longo do seu comprimento. A função motora do cólon, no entanto, é diferente em cada porção do

intestino grosso. No cólon direito ou proximal (ceco e cólon ascendente), e em menor grau nos demais segmentos, os padrões motores estão amplamente vinculados à sua função de propulsão, absorção de água e eletrólitos. O cólon proximal apresenta movimentos lentos e coordenados que facilitam a absorção, além de propiciar o crescimento, no lúmen colônico, de microorganismos capazes de facilitar a absorção de certos nutrientes para os colonócitos (CHRISTENSEN, 1987; CAMILLERI & FORD, 1998).

A motilidade colônica, no entanto, é pouco compreendida quando comparada à do TGI superior, devido a fatores, como: a complexidade de seu arranjo muscular, a maior dificuldade para acessar todo o órgão, a ausência de um modelo animal verdadeiramente apropriado, além da necessidade de se efetuar longas observações impostas por suas características circadianas (CHRISTENSEN, 1987; FREXINOS & DELVAUX, 1993).

SARNA (1991) classificou a motilidade colônica em: a) contrações fásicas individuais; b) contrações organizadas em grupos como, por exemplo, os complexos motores migratórios; c) contrações propulsivas especiais, como os movimentos de massa. *In vivo*, os dois tipos de contração foram registrados na camada circular do músculo liso, enquanto *in vitro* as contrações de longa duração foram observadas exclusivamente na camada longitudinal do músculo liso (ELSHARKAWY, 1983). Cada tipo de contração pode ocorrer de modo independente e as de longa duração podem se sobrepor às de curta duração. Tal sobreposição torna o formato da onda peristáltica obtida altamente complexa, haja vista que a mesma contém vários componentes de frequência, que variam no tempo (HUIZINGA et al., 1985; SARNA, 1991a; SHEARIN; BOWES; KINGMA, 1978).

No cólon, a atividade mioelétrica parece apresentar-se sob duas formas: atividade elétrica de controle (ECA) e complexo elétrico de contração - CEC (SARNA, 1991a). As contrações de curta duração estão associadas à ECA, enquanto as contrações de longa duração estão relacionadas ao CEC, um tipo de atividade elétrica que consiste de grupos intermitentes de oscilações no potencial de membrana. A ECA tem frequência de 2-13 cpm no homem e 4-6 cpm no cão, enquanto o CEC apresenta frequência de 13-40 cpm no homem, porcos, gatos e cães (SARNA, 1986; EL-SHARKAWY, 1983). Os padrões de motilidade do cólon também são dependentes do estado prandial. Nesse contexto, merece destaque a

resposta colônica à alimentação, pois a contratilidade aumenta por longos períodos e o fenômeno abrange tanto o estômago quanto o intestino (SARNA, 1991b).

Pesquisas desenvolvidas em ratos (*Rattus norvegicus albinus* – linhagem Wistar) têm efetivo potencial para estudos do TGI, pois trata-se de um animal que apresenta baixa variabilidade individual, o que uniformiza as condições experimentais. Além disso, a facilidade de manejo permite realizar estudos com um número maior de repetições e, em algumas situações, em menor tempo de realização. Além disso, o rato é um animal muito utilizado em experimentação possibilitando comparações com resultados de outros trabalhos, e a criação de novos grupos de estudos, necessários à exclusão de variáveis que possam afetar a interpretação dos resultados, como a desnutrição, por exemplo. A utilização destes animais é de grande relevância para o avanço do conhecimento científico, médico e veterinário em estudos gastrointestinais (ANDERSEN et al, 2004).

A área de Gastroenterologia apresenta diversas técnicas para avaliação dos parâmetros relativos à motilidade do TGI. Os métodos mais tradicionais são os que utilizam radiação ionizante, como a radiografia contrastada e a cintilografia por gama-câmara. Comumente, porém, essas técnicas são consideradas semiquantitativas, e potencialmente danosas ao organismo (SCOTT, 2003).

As radiografias seriadas com marcadores radiopacos, apesar de demandarem circunstâncias não fisiológicas para sua realização, e não apresentarem sensibilidade suficiente para detectar aceleração do trânsito intestinal, ainda são muito utilizadas (CAMILLERI & FORD, 1998). As radiografias, no entanto, envolvem a utilização de radiação ionizante.

A manometria é o método mais empregado no estudo das pressões e, portanto, das contrações intraluminais características do TGI. Todavia, por ser um método invasivo, este método altera as condições fisiológicas e o funcionamento do órgão em estudo (AZPIROZ & MALAGELADA, 1985). Além disso, a correlação existente entre aumentos de pressão e contrações ainda permanece imprecisa, principalmente devido às dificuldades para interpretar e quantificar as contrações nos traçados manométricos (SCOTT, 2003).

As medidas elétricas fornecem informações sobre os potenciais elétricos propagados na musculatura gastrointestinal, e que podem promover contrações, baseado no acoplamento eletromecânico (BRUNTON, 1996). Medidas do potencial

de superfície, como a eletrogastrografia (EGG), podem proporcionar subsídios para a compreensão da atividade de contração gástrica (QIAN et al, 2003; PARKMAN et al, 2003). Embora estudos realizados em indivíduos diabéticos, empregando a EGG, não tenham achado evidências de alterações na atividade elétrica gástrica (STACHER 2001), eletrodos implantados na serosa podem trazer informações adicionais, limitadas a uma região gástrica específica. O procedimento, embora implique em um procedimento cirúrgico, pode fornecer subsídios para a compreensão da atividade elétrica do estômago; e quando acoplado a uma técnica capaz de registrar a atividade de contração, pode fornecer dados de toda função motora gástrica (YOU & CHEY, 1984).

Alternativamente, métodos empregando biomagnetismo têm sido utilizados para o estudo da motilidade do TGI. O biomagnetismo é uma área que estuda os campos magnéticos gerados pelo organismo vivo ou por materiais magnéticos presentes no mesmo, com fins científicos ou de diagnóstico. Técnicas biomagnéticas são convenientes por não serem invasivas e não interferirem na fisiologia normal do órgão. Também têm as vantagens de não utilizar radiação ionizante, poupando o indivíduo de eventuais incômodos ou riscos à sua saúde (CORÁ et al, 2005).

GUIGNET et al. (2006) utilizaram uma nova ferramenta baseada em uma matriz de sensores, com a finalidade de mapear o trânsito gastrointestinal, através de um marcador magnético, em forma de cápsula, administrado por uma sonda oro-gástrica. No entanto, essa técnica utiliza um corpo invasivo que pode promover alterações do padrão fisiológico da atividade de contração no trânsito gastrointestinal. Além disso, o protocolo de contenção do animal utiliza uma caixa onde o mesmo é imobilizado totalmente por placas acrílicas, o que pode elevar os níveis de estresse.

A biosusceptometria de corrente alternada (BAC) é uma técnica biomagnética que vem sendo utilizada em razão do baixo custo e boa sensibilidade. Trata-se de uma técnica inócua, livre de radiação ionizante, não invasiva, que possibilita trabalhar sem intervenção anestésica, facilitando a experimentação in vivo. A versatilidade da técnica propicia a obtenção de resultados mais próximos das condições fisiológicas do objeto de estudo, conferindo similaridade com a aplicação clínica e terapêutica, permitindo avaliar a resposta da atividade de contração gástrica (CORÁ et al, 2005).

A técnica de BAC emprega um sensor magnético formado por dois conjuntos de bobinas, sendo cada conjunto composto de uma bobina excitadora e outra detectora. O arranjo gradiométrico de primeira ordem consiste no uso de duas bobinas em série, separadas por uma distância denominada linha de base, e enroladas em sentidos contrários, de modo que os fluxos magnéticos concatenados em cada bobina sejam subtraídos, eliminando os ruídos ambientais e tornando-as mais sensíveis (MIRANDA et al., 1992). O sensor, disposto em um arranjo coaxial, permite que a bobina detectora seja interna e a excitadora externa. Materiais ferromagnéticos apresentam alta susceptibilidade magnética ( $\chi_m$ ), ou seja, respondem intensamente à aplicação de um campo magnético. As ferritas (MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>), por exemplo, possuem baixa condutividade elétrica e alta susceptibilidade magnética ( $\chi_m$ ). Frequentemente, os materiais ferromagnéticos, quando empregados em medidas biomédicas, são agrupados em marcadores ou traçadores magnéticos, de acordo com a sua forma de apresentação. Os traçadores magnéticos são definidos como partículas de material magnético dispersas em um meio, enquanto nos marcadores as partículas estão contidas em uma forma farmacêutica sólida, como comprimidos ou cápsulas (CORÁ et al., 2003). Além disso, fragmentos sólidos de ferrita, maiores, podem, também, ser considerados excelentes marcadores magnéticos. A ferrita é um material inerte que quando submetido a testes físico-químicos não tem suas propriedades modificadas, na presença de ácido ou de base (CORÁ et al., 2006b). Quando nenhum material com essas propriedades magnéticas encontra-se próximo do sensor, este permanece balanceado e nenhuma voltagem é detectada. Porém, a aproximação de qualquer material magnético provoca um desbalanceamento do fluxo magnético, devido a uma maior concatenação desse fluxo sobre a bobina detectora mais próxima, o qual produz uma força eletromotriz (*fem*) de saída proporcional à massa e à distância entre o material e o sensor. Essa *fem* pode ser medida, digitalizada e captada continuamente com o auxílio de um amplificador sensível à fase "lock-in", uma placa analógico/digital e um computador. É possível acompanhar a atividade motora de contração através da BAC, uma vez que o sinal detectado por essa técnica é altamente dependente da distância e muda seu perfil conforme a distância entre o material magnético e o sensor. Por princípio, as contrações mecânicas afastam o material do sensor posicionado na superfície abdominal, reduzindo a *fem* registrada.

Do mesmo modo, o relaxamento aproxima o marcador magnético dos sensores, o que, conseqüentemente, aumenta a detecção da *fem*. A fixação de um marcador magnético à serosa do TGI se constitui em uma abordagem inédita e possibilita o registro direto dos movimentos da parede do tubo digestivo, ou seja, das contrações.

A BAC merece destaque pelos bons resultados obtidos nas comparações com as técnicas padrão em estudos de esvaziamento gástrico (MIRANDA et al., 1992) e nas análises do tempo de trânsito orocecal (BAFFA et al., 1995), tempo de trânsito esofágico (DAGHASTANLI et al., 1998), tempo de trânsito faríngeo (MIQUELIN et al., 2001), atividade contrátil do estômago no homem (AMÉRICO et al., 2007; MIRANDA et al., 1997) e em cães (MORAES ET al., 2003). Também é útil para a avaliação da distribuição intragástrica de refeições (AMÉRICO et al., 2007), estudos da motilidade colônica no homem (ROMEIRO et al., 2006) e da desintegração de comprimidos magnéticos no tubo digestório (CORÁ et al., 2003, 2006a).

Assim, os resultados obtidos neste trabalho experimental abrem perspectivas inovadoras para o uso da BAC associado à eletromiografia (EMG), na obtenção de registros fidedignos das atividades elétrica e mecânica do estômago e do cólon, de modo a fornecer informações valiosas para a melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos relacionados aos distúrbios da motilidade gastrointestinal, especialmente observada nos indivíduos diabéticos e/ou desnutridos. Esperamos contribuir com os avanços diagnósticos e terapêuticos destas afecções.



*Objetivos*



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Geral**

Desenvolver um novo modelo experimental de análise da motilidade do trato gastrointestinal (TGI), capaz de caracterizar a atividade elétrica e mecânica do estômago e do cólon em animais, e com potencialidades de aplicação no homem.

### **2.2. Específicos**

1. Caracterizar o padrão de motilidade do estômago e cólon de ratos normais, diabéticos induzidos pela aloxana e desnutridos, por restrição alimentar, utilizando a biosusceptometria AC (BAC) e a eletromiografia (EMG), tendo como objetos de observação a morfologia dos traçados eletromecânicos, a amplitude e a frequência de contração destas vísceras.
2. Avaliar a influência da desnutrição, isolada ou em associação ao diabetes descompensado, sobre as eventuais alterações da motilidade gástrica e colônica de ratos diabéticos induzidos pela aloxana ou desnutridos por restrição alimentar, tendo como parâmetro de normalidade ratos saudáveis, não diabéticos.



## *Material e Método*

### **3. MATERIAL E MÉTODO**

Esse trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia e Ortopedia, da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP e no Laboratório de Biomagnetismo do Departamento de Física e Biofísica do Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP.

Os procedimentos realizados neste experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, sob protocolo número 640/2007.

#### **3.1. Animais**

Foram utilizados ratos adultos (*Rattus norvegicus albinus* – linhagem Wistar), machos, com peso aproximado de 250g, provenientes do Biotério Central do Campus da UNESP – Botucatu.

#### **3.2. Ambiente de experimentação, profilaxia e tratamento de infecções**

No laboratório experimental os animais foram mantidos em gaiolas de poliuretano, forradas com palha autoclavada, em grupos de 4 animais/caixa, colocadas em “containers”, com temperatura, exaustão e iluminação controladas. O controle de insetos foi feito utilizando dispositivos foto-eletrônicos.

Na semana que antecedeu o início do experimento, os animais ficaram por um período de adaptação de 7 dias ao biotério, período em que foram vermifugados com mebendazol (Abbott – Cifarma, São Paulo – SP), administrado por via oral e adicionado à água de beber, e tratados profilaticamente de pediculose com fipronil/metoprene (Merial Saúde Animal Ltda., Paulínia –SP), colocado na superfície da pele. Na evidência de sinais clínicos de piodermite e/ou pneumonia no seguimento, os animais foram tratados, respectivamente, com cuidados locais das lesões com solução degermante de digluconato de clorhexedina (NeoQuimica, São Paulo – SP) e administração de cloridrato de tetraciclina, na dose de 100mg/kg (Bristol – M – Squibb, São Paulo – SP) colocada na água de beber, durante 7-10 dias.

### 3.3. Distribuição e sorteio dos animais

No 7º dia do período de adaptação, os animais foram sorteados em três grupos de ratos; o primeiro, destinado aos animais que permaneceram como controles (normais não-diabéticos), o segundo, aos animais que foram submetidos à restrição alimentar (desnutridos) e o terceiro aos animais que foram submetidos à indução do diabetes experimental (diabéticos), conforme metodologia descrita a seguir.

A indução do diabetes experimental no grupo diabético ocorreu no dia posterior ao sorteio (8º dia). Neste dia também foi iniciada a restrição alimentar no grupo desnutrido, sendo ambos os grupos acompanhados com um grupo normal pareado. Foi aguardado um período de 14 dias para definição dos animais com estado diabético grave e de desnutrição inicial. Este dia foi considerado o primeiro dia de seguimento dos três grupos experimentais (21º dia do experimento).

### 3.4. Grupos experimentais

Como descrito anteriormente, neste experimento os animais foram distribuídos, por sorteio, em três grupos experimentais pareados, compostos por 20 ratos cada um, e assim designados:

**Grupo controle:** constituído de 20 animais normais, sadios, não-diabéticos;

**Grupo diabético:** constituído de 20 animais diabéticos, de severidade grave, não-tratados;

**Grupo desnutrido:** constituído de 20 animais desnutridos por restrição alimentar;

Animais que evoluíram para o óbito no período pós-indução do diabetes ou no seguimento precoce ou tardio, dos três grupos experimentais, foram repostos, de modo a não comprometer o número final de ratos de cada grupo ou subgrupo estudado.

### **3.5. Momentos de avaliação e sacrifício**

Cada um destes três grupos experimentais foi subdividido, por sorteio, em dois subgrupos de ratos, compostos por 10 animais cada um, para serem avaliados e sacrificados em 2 momentos distintos do experimento, a saber:

M<sub>1</sub> – animais sacrificados com 1 mês de seguimento normal, com desnutrição ou com diabetes;

M<sub>2</sub> – animais sacrificados com 6 meses de seguimento normal, com desnutrição ou com diabetes;

Todos os animais do estudo também tiveram uma avaliação inicial (M<sub>0</sub>), realizada no 14<sup>o</sup> dia após a indução do diabetes ou do início da desnutrição, para obtenção apenas de parâmetros clínicos e laboratoriais.

### **3.6. Parâmetros analisados**

No presente estudo foram avaliados os seguintes parâmetros:

Clínicos: estado geral, atividade física, e controles do peso corporal (g), ingestão hídrica (ml/24h), ingestão alimentar (g/12h) e diurese (ml/24h), em gaiolas metabólicas;

Laboratoriais: dosagens de glicose sanguínea (mg/dl), hemoglobina glicosilada (%), insulina plasmática (μUI/ml), proteínas totais (g/dl) e albumina (g/dl);

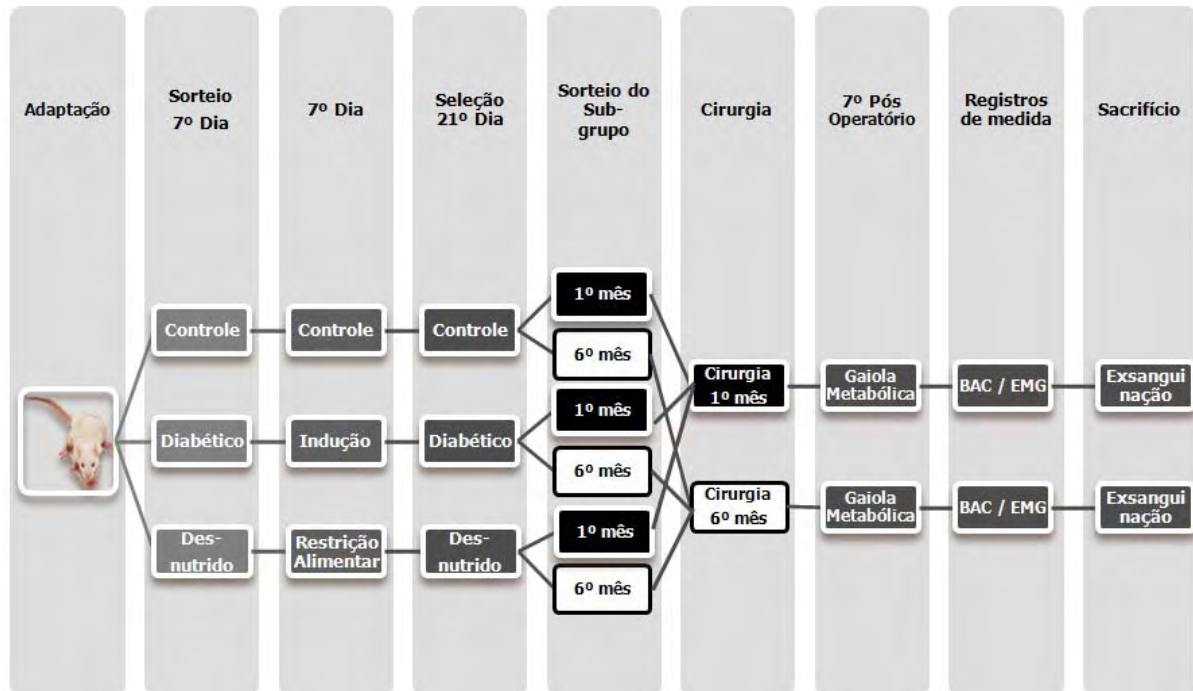
Avaliação da motilidade gastrointestinal: análise da atividade elétrica e mecânica do estômago e do cólon através da eletromiografia (EMG) e da biosusceptometria AC (BAC), com avaliação das variáveis: pré-análise qualitativa da morfologia dos traçados eletromecânicos, frequência de contrações/minuto, índice de anormalidade na ritmicidade das contrações e amplitude de contrações/min, com o animal em jejum e alimentado.

### **3.7. Delineamento experimental**

O delineamento experimental definido para cada lote de animais oriundo do Biotério Central obedeceu uma sequência padronizada de procedimentos que pode ser assim resumida:

- a) Período de adaptação de 7 dias ao biotério do laboratório experimental, com tratamento profilático de verminoses e exoparasitoses;
- b) Sorteio inicial dos ratos no 7º dia do período de adaptação, em 3 grandes grupos de animais;
- c) Indução do diabetes experimental no grupo diabético, início da restrição alimentar no grupo desnutrido e início do acompanhamento do grupo normal, no 8º dia do experimento;
- d) Interregno de 14 dias para definição dos animais diabéticos graves e do estado inicial de desnutrição por restrição alimentar;
- e) Sorteio dos subgrupos experimentais, com 1 e 6 meses de seguimento, em cada um dos três grupos experimentais, no 21º dia do experimento;
- f) Realização das cirurgias de implantação dos eletrodos na parede gástrica e do cólon, para obtenção dos registros elétricos e mecânicos, respectivamente, após 1 mês e 6 meses de seguimento normal, diabético ou de desnutrição;
- g) Obtenção de parâmetros clínicos em gaiolas metabólicas, no início (14º dia) e ao término do 1º e 6º mês de seguimento, respectivamente;
- h) Obtenção dos registros EMG e BAC do estômago e cólon em de cada subgrupo experimental (1 e 6 meses), 1 semana após a cirurgia de implantação dos eletrodos;
- i) Sacrifício dos animais após a obtenção dos registros, com obtenção das amostras sanguíneas para as dosagens bioquímicas e posterior sacrifício dos animais;

A Fig. 1 ilustra o delineamento experimental do estudo em um diagrama representativo das diversas fases do experimento.



**Figura 1:** Diagrama representativo das várias etapas do delineamento experimental do estudo.

### 3.8. Técnicas Utilizadas

#### 3.8.1. Indução do diabetes experimental

O diabetes foi induzido pela administração de uma solução aquosa de aloxana a 2% (5,6 dioxiuracil monohidrato – Sigma Co, USA), injetada por via endovenosa, em dose única de 42mg/kg de peso corporal, utilizando-se uma das veias da cauda do animal.

No presente estudo somente foram utilizados animais com sinais clínicos de diabetes grave, caracterizado por poliúria, polidipsia e polifagia, acompanhados de glicemia de jejum >250mg/dL e glicosúria +++ detectada em fitas reagentes (Gluketur test – Boeringhe Ingelheim) em duas determinações sucessivas (7 e 14 dias após a indução do diabetes). Animais diabéticos cujos critérios descritos não foram preenchidos foram excluídos do experimento.

### **3.8.2. Indução da desnutrição**

A desnutrição proteico-calórica foi obtida por restrição da dieta oferecida aos animais, sendo limitada a 12 g de ração/dia, (Nuvilab CR1 - Nuvital Nutrientes Ltda, Curitiba/PR), o equivalente a 50% da quantidade habitualmente ingerida por ratos normais de mesma espécie e idade. Água foi oferecida “ad libidum”.

### **3.8.3. Obtenção de parâmetros clínicos em gaiolas metabólicas**

No início do experimento (14<sup>o</sup> dia após a indução do diabetes, de seguimento normal ou de restrição alimentar) e, no dia anterior, a cada um dos momentos definidos para o sacrifício (1 e 6 meses), os animais dos três grupos experimentais foram colocados em gaiolas metabólicas individuais, durante um período de 24 horas, sendo oferecida, ao final da tarde, quantidade padronizada de ração e água. Ao término de um período noturno de 12 horas a ração consumida foi registrada (ingestão alimentar em g/12h) e ao término de 24 horas, foram registrados: o volume de água ingerido (ingestão hídrica em ml/24h), a quantidade de urina coletada (diurese em ml/24h) e o peso corporal (g).

### **3.8.4. Obtenção dos parâmetros bioquímicos**

Para obtenção dos parâmetros laboratoriais iniciais, os animais ficaram de jejum por 12h noturnas, sendo o sangue coletado por secção da cauda. Para tanto, os mesmos foram colocados em uma caixa com luzes incandescentes, por um período de 10 minutos, visando aquecê-los e promover a vasodilatação da cauda. A seguir, a cauda foi seccionada em sua extremidade distal, sendo obtidos, por gotejamento, 1,5 ml de sangue para as dosagens bioquímicas. A seguir, a extremidade da cauda seccionada foi amarrada com fio de algodão 2-0, com finalidade hemostática. No sacrifício, o sangue foi obtido por punção cardíaca com o tórax aberto, sendo os animais sacrificados por exsanguinação.

### **3.8.5. Implante cirúrgico dos eletrodos e do marcadores magnéticos**

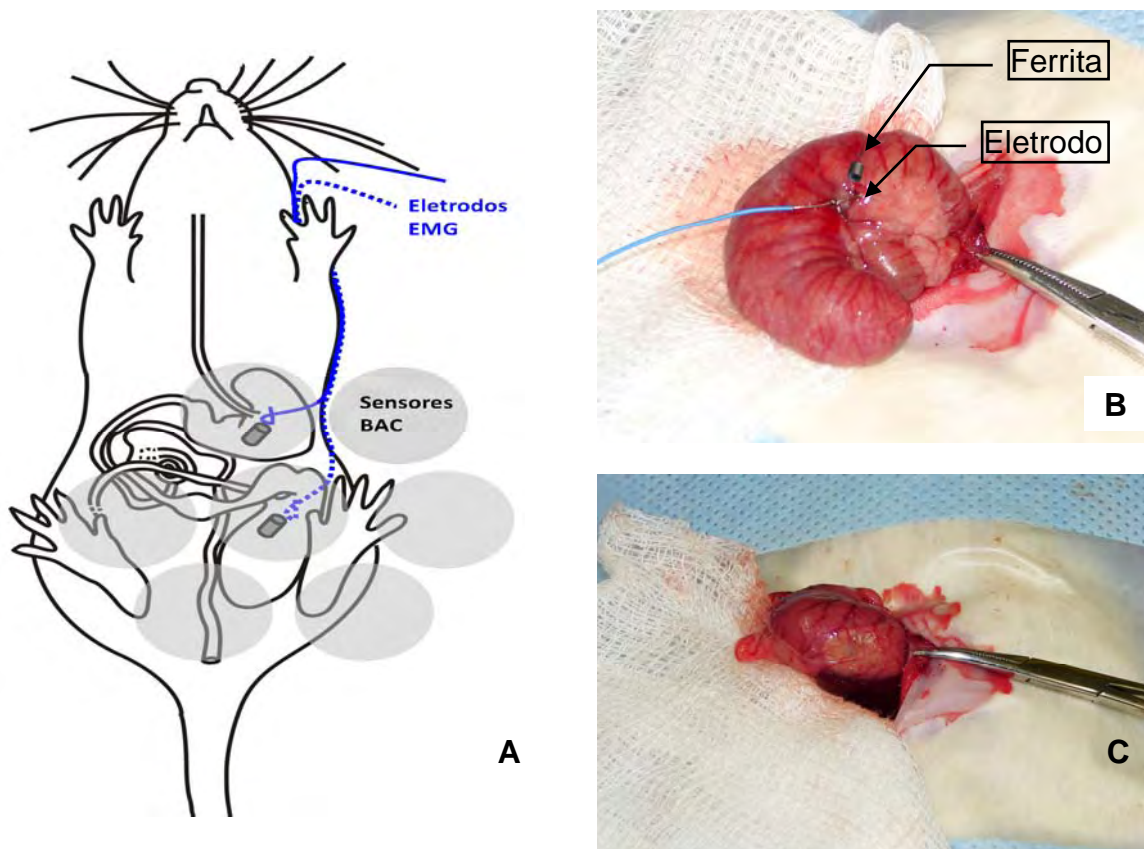
Para realização dos procedimentos cirúrgicos os animais permaneceram de jejum alimentar, por um período de 12 h e, a seguir, anestesiados com ketamina 10% e xilazina 2% (Rhubifarma Ind. Farmacêutica Ltda, Hortolândia – SP),



administradas por via intramuscular, na dose de 100 mg/kg e 50mg/kg, respectivamente.

Após realização da tricotomia, o abdome dos animais foi aberto, com exposição do estômago e do cólon direito (ceco). Um conjunto composto pelo eletrodo e o marcador magnético foi, então, implantado na serosa gástrica e na serosa do ceco, respectivamente. Cada conjunto implantado era constituído de um toróide de 0,12 g de ferrita (marcador magnético -  $MnFe_2O_4$ ), com 3.5mm de diâmetro e 3.0mm de altura, de um eletrodo do tipo marca passo cardíaco (Ethicon - Johnson & Johnson). Ambos foram fixados em um mesmo ponto. O fio do eletrodo foi exteriorizado no topo da cabeça do animal, por meio de tunelamento subcutâneo.

A Fig. 2 ilustra esquematicamente o procedimento cirúrgico.



**Figura 2:** Ilustração esquemática da implantação dos eletrodos e dos marcadores magnéticos, para obtenção dos registros EMG e BAC (A), Conexão EMG e Ferrita no ceco (B), estômago proximal e distal(C).

### **3.8.6. Obtenção dos sinais elétricos e mecânicos**

Vinte quatro horas antes dos registros eletromecânicos os ratos foram acondicionados em gaiolas aramadas individuais. Para obtenção dos registros os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico 3% (Rhubifarma Ind. Farmacêutica Ltda, Hortolândia – SP), administrado por via intraperitoneal, na dose de 40 mg/kg de peso corporal, sendo posicionados em decúbito dorsal horizontal. Todos os registros elétricos e mecânicos tiveram duração mínima de 30 minutos e foram obtidos, simultaneamente, a uma frequência de 20 Hz, utilizando um registrador multi-canal (Biopac MP100 System) conectado a um computador. Os dados foram arquivados em formato ASCII para posterior análise em ambiente MatLab (MathWorks Inc.).

Para o registro do EMG, eletrodos tipo agulhas foram colocados nas patas traseiras direitas dos animais para atuarem como “terra”. Um conjunto com sete sensores magnéticos foi posicionado sobre o abdome para abranger tanto a região gástrica quanto a do ceco. Os eletrodos foram conectados a um sistema de aquisição de sinais elétricos (BIOPAC EGG100C). As Figuras 3 e 4 ilustram o sistema utilizado para a realização da biosusceptometria (BAC).

### **3.8.7. Sistema para medidas da atividade mioelétrica (EMG)**

Um sistema para registrar sinais eletromiográficos foi desenvolvido no próprio laboratório para proporcionar uma flexibilidade de parâmetros que geralmente não pode ser obtida nos equipamentos convencionais. O sistema de EMG empregou um amplificador diferencial (A.D.) – modelo 623 – capaz de captar registros monopolares ou bipolares. A configuração monopolar foi selecionada para todos os experimentos, visto que a comparação com o marcador magnético, implantado no mesmo ponto, era almejada. Outros componentes utilizados foram, sequencialmente, um filtro “passa-alta” (P.A.) de 0,005 Hz e um filtro tipo Butterworth “passa-baixa” (P.B.) de 3 Hz antes da digitalização.

### **3.8.8. Processamento de Sinais**

A análise dos sinais foi realizada com ampla flexibilidade de parâmetros e totalmente no ambiente MatLab. Todos os dados foram submetidos a uma avaliação inicial, que consistiu na inspeção visual dos sinais originais, ou seja, sem qualquer

tipo de filtragem, sendo projetados em termos de intensidade em função do tempo. Nessa análise, os perfis dos múltiplos sensores posicionados sobre o abdome do animal foram comparados de modo espacial e temporal, e separados em região colônica e região gástrica. Uma vez determinados os sensores de BAC, correspondentes à região colônica, esses sinais mecânicos foram comparados aos sinais elétricos (EMG). Para a análise de dados temporais foi utilizada a Transformada Rápida de Fourier (FFT), que transforma um sinal no domínio do tempo em um sinal no domínio da frequência e vice-versa, sem nenhuma perda de informação. A análise espectral foi empregada para verificar a frequência do sinal e sua potência, no decorrer do tempo de medida (REDDY; COLLINS; DANIEL, 1987). Um filtro tipo Butterworth, de ordem 3, foi utilizado para selecionar, com pouca ou nenhuma atenuação, determinados componentes de frequência, sendo possível rejeitar ou remover todas os componentes indesejáveis de um sinal. Interferências causadas por artefatos respiratórios, ruídos ambientais ou mesmo por frequências de contração de órgãos adjacentes, como o coração, podem atrapalhar a interpretação dos sinais gastrintestinais. Este filtro apresenta resposta em amplitude maximamente plana e bidirecional, de modo a não causar modificação na fase do sinal (MIRANDA et al.,1992). Pode-se utilizar os seguintes tipos de filtros: “passa-baixa” (só permite a visualização de frequências abaixo de uma faixa pré-estabelecida), “passa-altas” (só permite a visualização de frequências acima de uma faixa pré-determinada), “passa-banda” (só permite a visualização de frequências dentro de uma faixa pré-estabelecida), “rejeita-banda” (não permite a visualização de uma faixa de frequência pré-determinada) e “passa tudo” (não altera as amplitudes dos componentes do sinal, somente sua fase). Esses tipos de filtros são de delineamento simples e podem ser associados, no intuito de realizar múltiplas seleções de frequência em um sinal. O ajuste dos filtros digitais e sua associação são muito importantes, sendo determinados, principalmente, em razão do que se deseja observar. As frequências foram expressas em hertz (Hz) e posteriormente multiplicadas por 60 para refletir também o tradicional cpm (ciclos por minutos).

### **3.8.9. Análise de frequência**

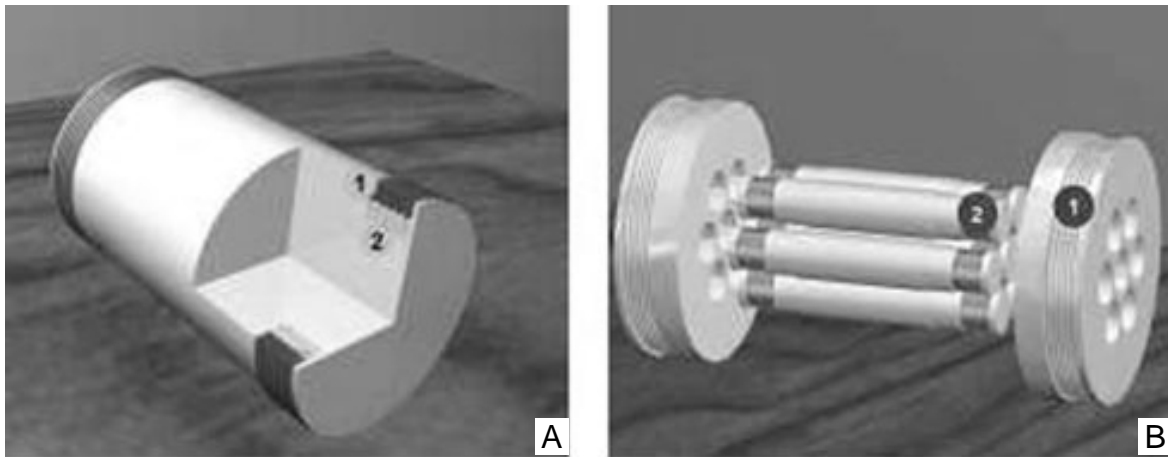
Para a inspeção visual dos registros originais, elétricos e magnéticos, as frequências de contrações foram agrupadas por faixas, por meio de FFTs. As

seguintes faixas de frequências foram utilizadas: 0,02-0,035 Hz (1,2-2,1 cpm) ou baixa frequência; 0,04-0,05 Hz (2,4-3 cpm); 0,07-0,1 Hz (4,2-6 cpm) ou frequência contrátil do estômago; 0,12-0,135 Hz (7,2-8,1 cpm); 0,14-0,16 Hz (8,4-9,6 cpm); 0,18-0,2 Hz (10,8-12 cpm); 0,22-0,25 Hz (13,2-15cpm); 0,26-0,32 Hz (15,6-19,2 cpm) ou alta frequência. Foram quantificadas apenas as frequências com incidência maior ou igual a 90% do número de estudos utilizados em cada protocolo.

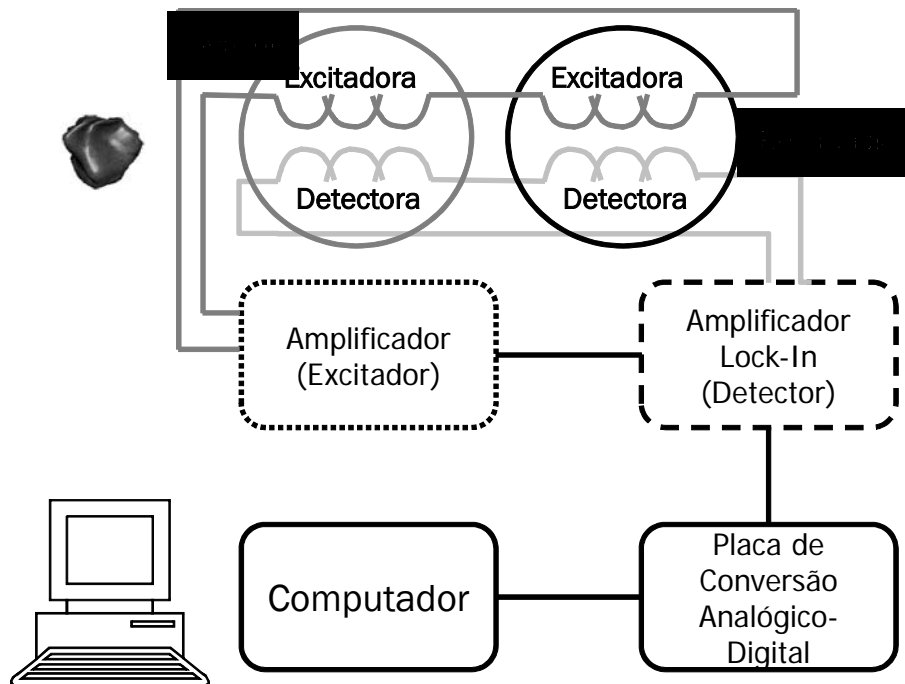
Um projeto de filtros passa-banda foi aplicado para quantificar cada uma dessas quatro faixas de frequência. Para a baixa frequência foi utilizado um filtro entre 0,01-0,035 Hz (1,2-2,1 cpm), para o estômago entre 0,06-0,1 Hz (3,6-6 cpm) e para a alta frequência entre 0,24-0,32 Hz (14,1-19,2 cpm), enquanto outro grupo de filtros entre 0,035-0,055 Hz (2,1-3,3 cpm) foi aplicado para a faixa 0,04-0,05 (em torno de 3 cpm).

### **3.8.10. Análise da amplitude**

As variações de amplitude, no decorrer de uma sessão de medida, foram avaliadas por um parâmetro denominado AUC (area under curve ou área sob a curva) conforme designado por alguns autores (SARNA et. al., 1991). A AUC, em volts por segundo (V.s), foi calculada em intervalos de tempo de 200 segundos.



**Figura 3:** Sistemas transdutores de BAC com um (A) e com sete (B) canais. São destacadas nas ilustrações as bobinas excitadoras (1) e as detectoras (2).



**Figura 4:** Diagrama em blocos do sistema BAC

### 3.9. Análise estatística

O estudo das variáveis clínicas (peso corporal, ingestão hídrica, ingestão alimentar e diurese), laboratoriais (glicose sanguínea, hemoglobina glicosilada, insulina plasmática, proteínas totais e albumina) e dos registros elétricos e mecânicos da motilidade gástrica e colônica, segundo os grupos, normal, diabético e desnutrido, e os seus respectivos momentos de sacrifício, foi realizado através da análise de variância, no delineamento inteiramente casualizado, analisados pelo teste ANOVA (Análise of Variance) para um critério, complementado pelo teste de múltipla comparação Tukey-Kramer, adotando nível de significância  $p \leq 0,05$ . Para análise da correlação em frequência entre a BAC e a EMG foram calculados os coeficientes de correlação de Spearman. As correlações temporais entre os sinais elétricos e magnéticos, provenientes do estômago e ceco, foram obtidas através de uma análise tipo “cross-correlation” implementada em ambiente MatLab.

Para indicação dos resultados do teste de comparações múltiplas foram utilizadas letras maiúsculas para comparação entre grupos experimentais, fixado o momento; e letras minúsculas na comparação dos momentos, dentro de cada grupo experimental.

Para a interpretação das letras foi adotada a seguinte padronização:

1. Duas médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, não diferem entre si, no nível de significância de 5%; isto é, a variável estudada não difere entre os grupos, no momento fixado.
2. Duas médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, não diferem entre si, no nível de significância de 5%; isto é, a variável estudada não difere nos vários momentos, dentro de cada grupo experimental.
3. Duas médias, de estados prandiais diferentes, seguidas de uma mesma letra minúscula, não diferem entre si, no nível de significância de 5%; isto é, a variável estudada não difere no mesmo, dentro de cada grupo experimental.



*Resultados*

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. Achados clínicos e laboratoriais**

Ratos normais controles, não-diabéticos, apresentaram parâmetros clínicos e laboratoriais compatíveis com os observados em animais de mesma linhagem, em todos os períodos de avaliação do experimento. Cerca de 27% dos animais deste grupo apresentaram complicações cirúrgicas, incluindo abscesso de incisão cirúrgica e/ou no trajeto subcutâneo do eletrodo, tendo 10% evoluído para o óbito, em decorrência de pneumonia.

Ratos diabéticos, sem qualquer tratamento da doença, evoluíram com dificuldade acentuada de ganho de peso corporal e aumento significativo ( $P < 0,01$ ) da ingestão hídrica, ingestão alimentar e diurese, quando comparados com animais controles (Tabelas 1 a 4 e Fig. 5 a 8). Os níveis de glicose sanguínea e de hemoglobina glicosilada também foram elevados em ratos diabéticos, sendo os valores plasmáticos da insulina significativamente baixos ( $P < 0,001$ ). As tabelas numeradas de 5 a 8 e as figuras de 9 a 12 ilustram estes achados.

Cerca de 17% dos ratos submetidos à indução do diabetes com aloxana não ficaram diabéticos ou desenvolveram hiperglicemia leve ou moderada, tendo sido excluídos do experimento. Entre os animais restantes, 40% desenvolveram diabetes grave e 43% morreram durante as duas primeiras semanas após a indução, em decorrência dos efeitos tóxicos da aloxana. Dentre os animais que desenvolveram diabetes grave, 23,8% tiveram alguma intercorrência, incluindo abscesso de incisão cirúrgica, abscesso no trajeto subcutâneo do eletrodo, evisceração ou pneumonia. Entre estes animais 8% morreram antes do final do experimento devido a evisceração ou pneumonia.

À exceção do peso corporal, parâmetros clínicos e laboratoriais de ratos desnutridos foram compatíveis como os observados em animais normais controles, de mesmo período de seguimento. Neste grupo, o peso corporal não diferiu significativamente de ratos diabéticos, durante todo o seguimento ( $P > 0,05$ ).

Cerca de 26% dos animais do grupo desnutrido apresentaram complicações cirúrgicas, incluindo abscesso de incisão cirúrgica e/ou no trajeto subcutâneo do eletrodo, tendo 40% dos animais evoluído para o óbito durante o seguimento devido a pneumonia.



**Tabela 1:** Médias  $\pm$  desvios-padrão da evolução do peso corporal (g) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento.

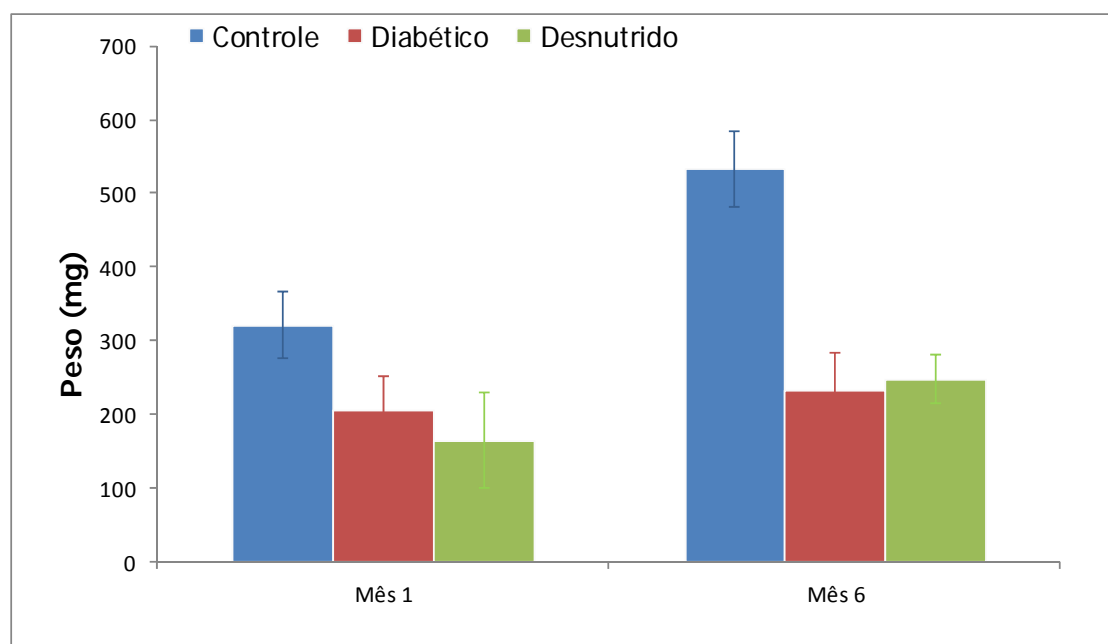
Grupos	Seguimento			
	1º Mês		6º Mês	
Controle	320,00 $\pm$ 45,22	Aa	532,00 $\pm$ 51,60	Ab
Diabético	205,00 $\pm$ 45,89	Ba	232,00 $\pm$ 50,73	Ba
Desnutrido	163,60 $\pm$ 64,84	Ba	246,50 $\pm$ 32,83	Bb

A<sup>(1)</sup>a<sup>(2)</sup>

(1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.

(2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.

**Comentários:** O peso corporal do grupo diabético e desnutrido foi significativamente menor que o observado no grupo controle, nos dois momentos estudados. No grupo desnutrido foi observado um aumento significativo no seguimento.



**Figura 5:** Evolução do peso (g) dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.

**Tabela 2:** Médias  $\pm$  desvios-padrão da evolução da ingestão hídrica (ml/24h) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento.

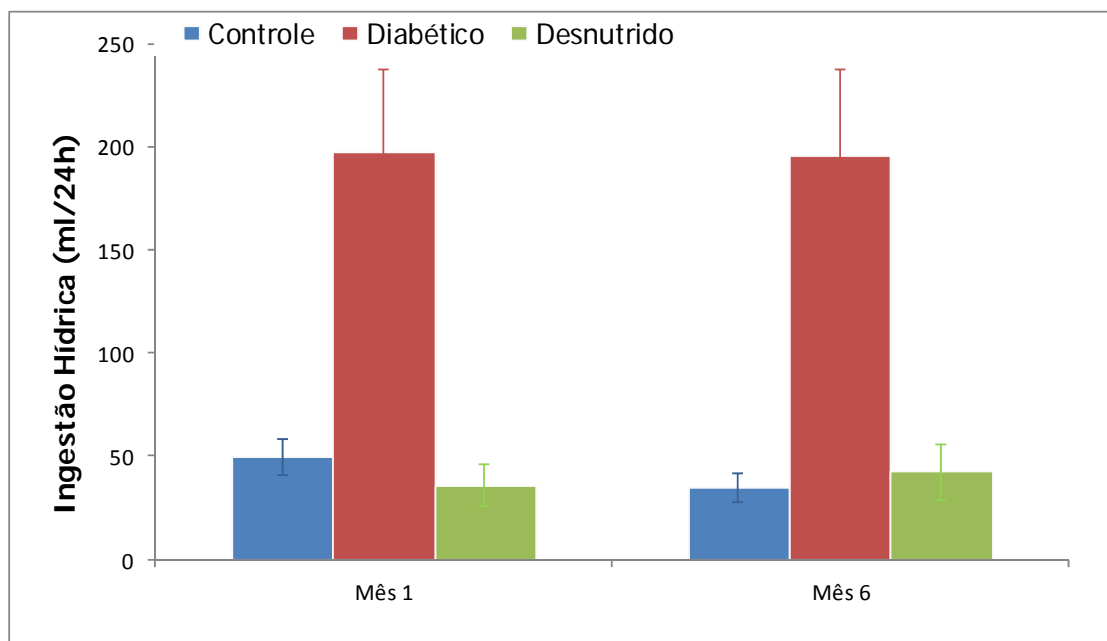
Grupos	Seguimento			
	1º Mês		6º Mês	
Controle	49,50 $\pm$ 8,96	Aa	34,50 $\pm$ 7,25	Aa
Diabético	197,00 $\pm$ 40,84	Ba	195,00 $\pm$ 42,75	Ba
Desnutrido	35,71 $\pm$ 10,18	Aa	41,88 $\pm$ 13,61	Aa

A<sup>(1)</sup>a<sup>(2)</sup>

(1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.

(2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.

**Comentários:** A ingestão hídrica do grupo diabético foi significativamente maior que o grupo controle e desnutridos, nos dois momentos estudados.



**Figura 6:** Evolução da Ingestão hídrica (ml/24h) dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos

**Tabela 3:** Médias  $\pm$  desvios-padrão da evolução da ingestão alimentar (g/12h) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento.

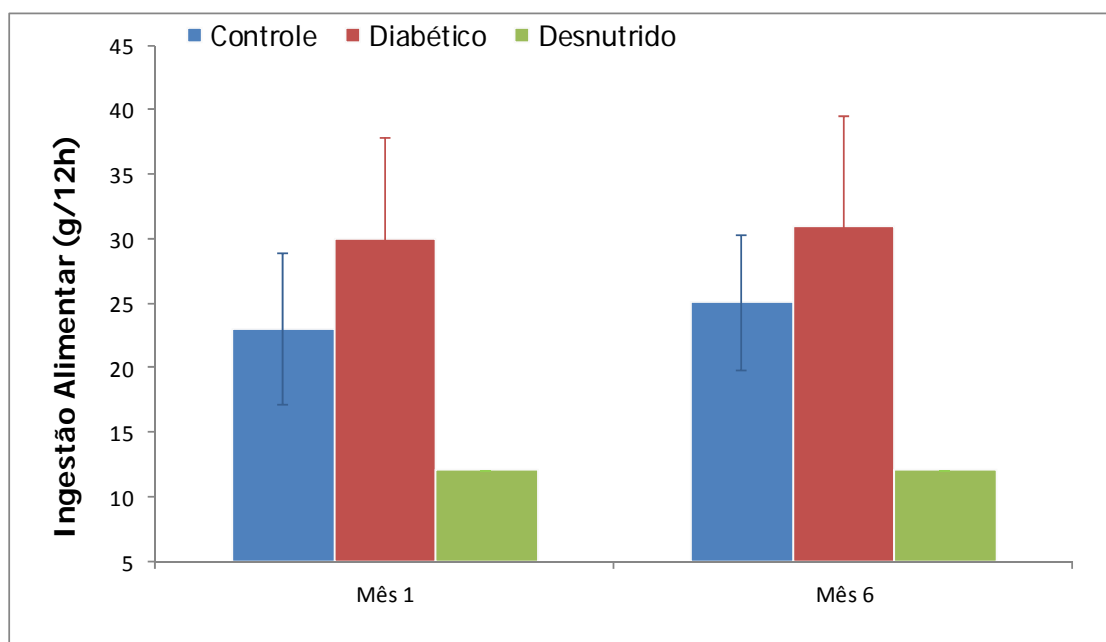
Grupos	Seguimento			
	1º Mês		6º Mês	
Controle	23,00 $\pm$ 5,87	Aa	25,00 $\pm$ 5,27	Aa
Diabético	30,00 $\pm$ 7,82	Ba	31,00 $\pm$ 8,43	Ba
Desnutrido	12,00 $\pm$ 0,00	Ca	12,00 $\pm$ 0,00	Ca

A<sup>(1)</sup>a<sup>(2)</sup>

(1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.

(2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.

**Comentários:** A ingestão alimentar no grupo diabético foi significativamente maior em relação ao grupo controle, nos dois momentos estudados. Ingestão alimentar do grupo desnutrido restrita a 12g/dia.



**Figura 7:** Evolução da Ingestão alimentar (ml) dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.

**Tabela 4:** Médias  $\pm$  desvios-padrão da evolução da diurese (ml/24h) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento.

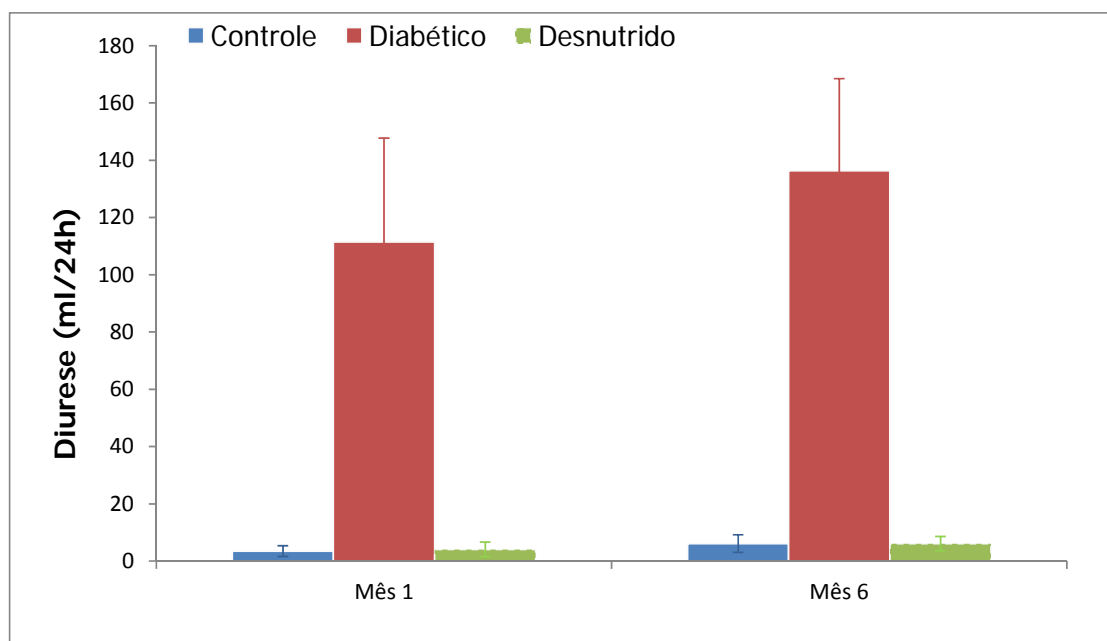
Grupos	Seguimento			
	1º Mês		6º Mês	
Controle	3,50 $\pm$ 1,84	Aa	6,10 $\pm$ 3,07	Ab
Diabético	111,50 $\pm$ 36,24	Ba	136,40 $\pm$ 32,08	Ba
Desnutrido	4,10 $\pm$ 2,56	Aa	6,10 $\pm$ 2,47	Aa

A<sup>(1)</sup>a<sup>(2)</sup>

(1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.

(2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.

**Comentários:** A diurese do grupo diabético foi significativamente maior que o grupo controle e desnutrido. No grupo controle foi observado um aumento signifiante no seguimento.



**Figura 8:** Evolução da diurese (ml) dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.

**Tabela 5:** Médias  $\pm$  desvios-padrão da evolução da glicose plasmática (mg/dL) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento.

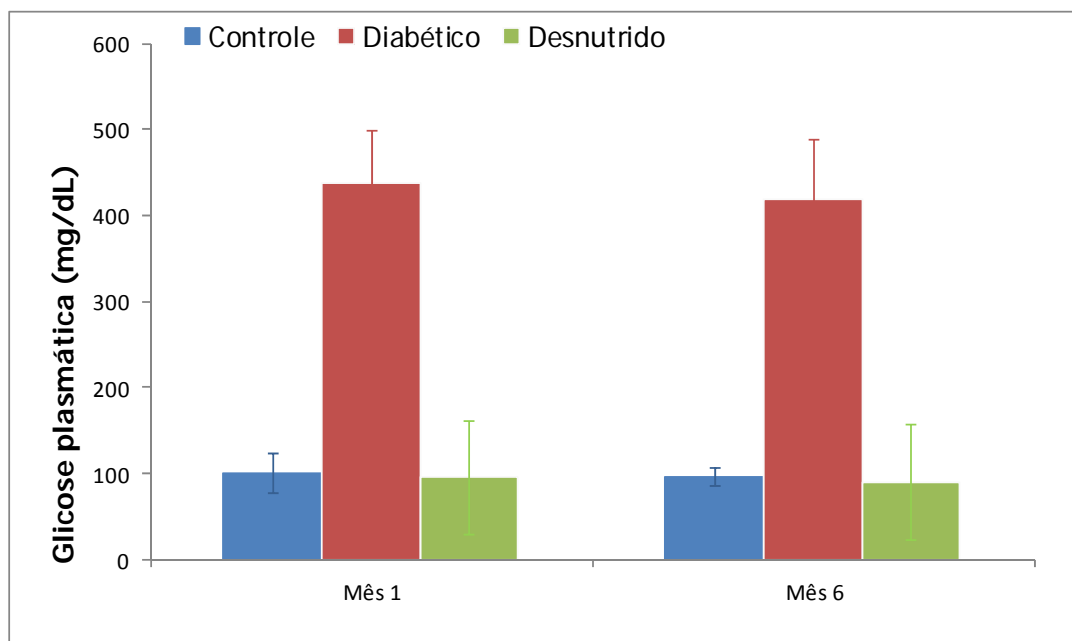
Grupos	Seguimento			
	1º Mês		6º Mês	
Controle	99,80 $\pm$ 22,35	Aa	95,60 $\pm$ 11,12	Aa
Diabético	438,00 $\pm$ 61,34	Ba	418,20 $\pm$ 68,97	Ba
Desnutrido	94,30 $\pm$ 65,37	Aa	89,60 $\pm$ 66,93	Aa

A<sup>(1)</sup>a<sup>(2)</sup>

(1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.

(2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.

**Comentários:** A glicemia de jejum do grupo diabético foi significativamente maior que o grupo controle e desnutrido, nos dois momentos estudados.



**Figura 9:** Médias das concentrações de glicose plasmática dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.

**Tabela 6:** Médias  $\pm$  desvios-padrão da evolução da glicosúria (mg/dL) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento.

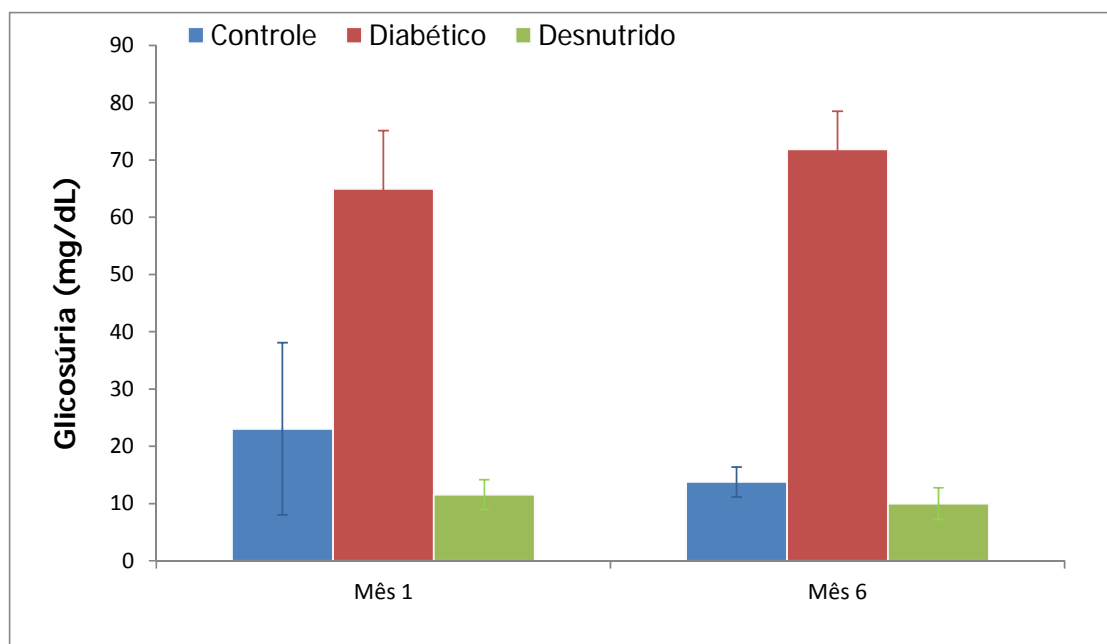
Grupos	Seguimento			
	1º Mês		6º Mês	
Controle	23,07 $\pm$ 15,05	Aa	13,77 $\pm$ 2,63	Ab
Diabético	64,98 $\pm$ 10,14	Ba	71,87 $\pm$ 6,60	Ba
Desnutrido	11,58 $\pm$ 2,60	Ca	10,00 $\pm$ 2,77	Ca

A<sup>(1)</sup>a<sup>(2)</sup>

(1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.

(2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.

**Comentários:** A glicosúria do grupo diabético foi significativamente maior que o grupo controle e desnutrido, nos dois momentos estudados. No grupo controle foi observado uma diminuição significativa no seguimento.



**Figura 10:** Médias das concentrações de glicosúria dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.

**Tabela 7:** Médias  $\pm$  desvios-padrão da evolução da hemoglobina glicosilada (%) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento.

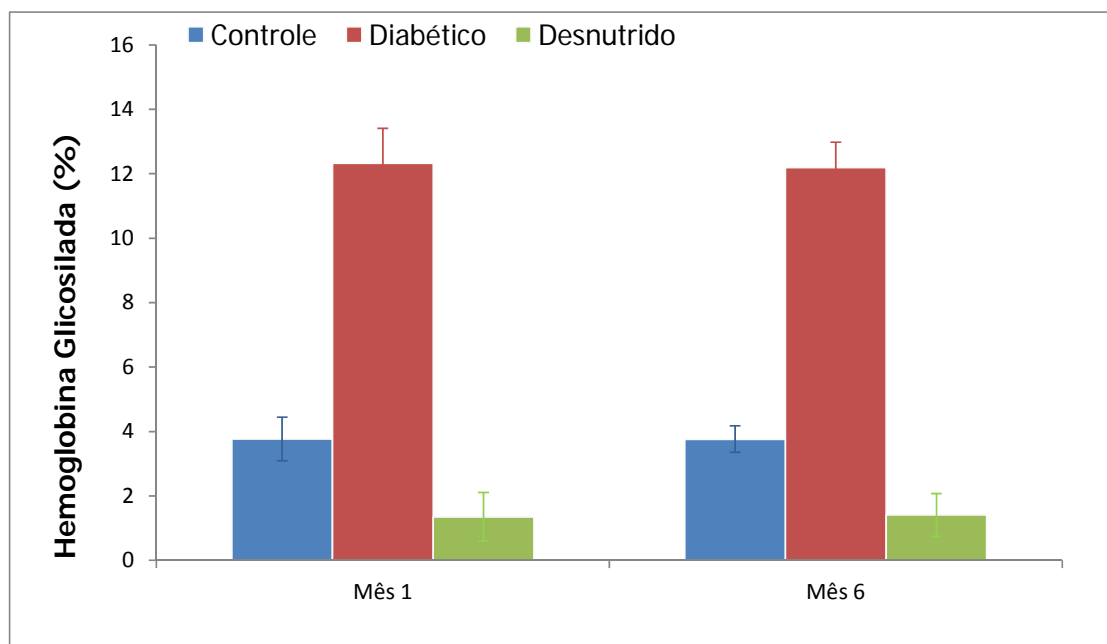
Grupos	Seguimento			
	1 <sup>o</sup> Mês		6 <sup>o</sup> Mês	
Controle	3,77 $\pm$ 0,68	Aa	3,76 $\pm$ 0,41	Aa
Diabético	12,33 $\pm$ 1,08	Ba	12,19 $\pm$ 0,79	Ba
Desnutrido	1,35 $\pm$ 0,75	Ca	1,41 $\pm$ 0,66	Ca

A<sup>(1)</sup>a<sup>(2)</sup>

(1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.

(2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.

**Comentários:** A hemoglobina glicosilada do grupo diabético foi significativamente maior que o grupo controle e desnutrido, nos dois momentos estudados.



**Figura 11:** Médias das concentrações de Hemoglobina Glicosilada dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.

**Tabela 8:** Médias  $\pm$  desvios-padrão da evolução da insulina plasmática ( $\mu\text{UI/ml}$ ) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento.

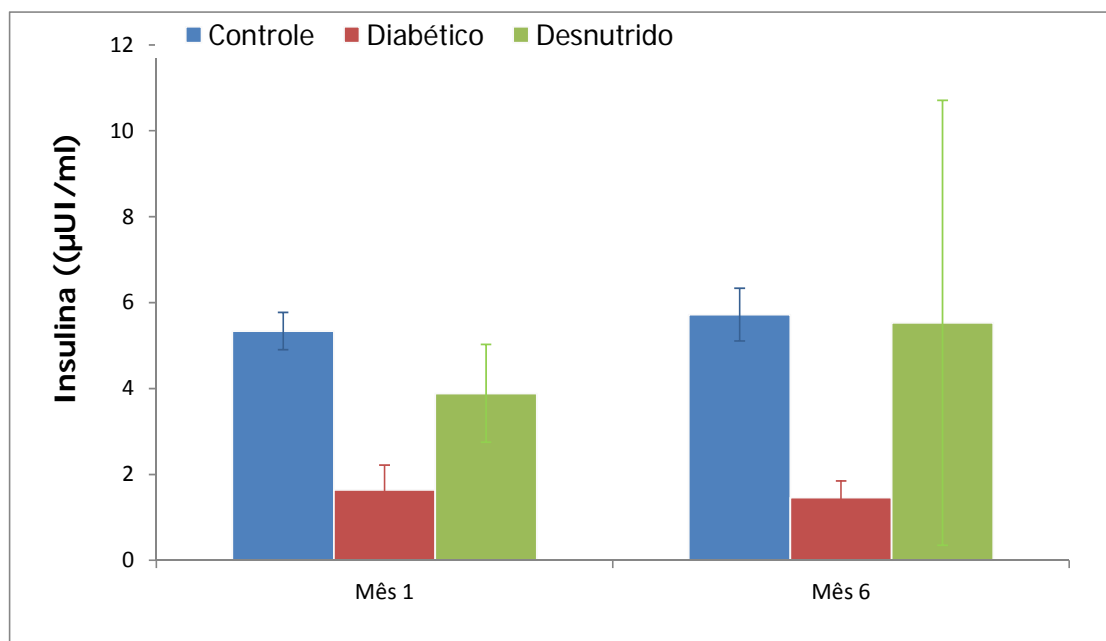
Grupos	Seguimento			
	1º Mês		6º Mês	
Controle	5,34 $\pm$ 0,43	Aa	5,72 $\pm$ 0,61	Aa
Diabético	1,64 $\pm$ 0,58	Ba	1,46 $\pm$ 0,39	Ba
Desnutrido	3,89 $\pm$ 1,14	Aa	5,53 $\pm$ 5,18	Aa

A<sup>(1)</sup>a<sup>(2)</sup>

(1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.

(2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.

**Comentários:** A insulina plasmática do grupo diabético foi significativamente menor que o grupo controle e desnutridos, nos dois momentos estudados.



**Figura 12:** Médias das concentrações de Insulina dos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.



**Tabela 9:** Médias  $\pm$  desvios-padrão da concentração de proteínas totais (g/dl) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento.

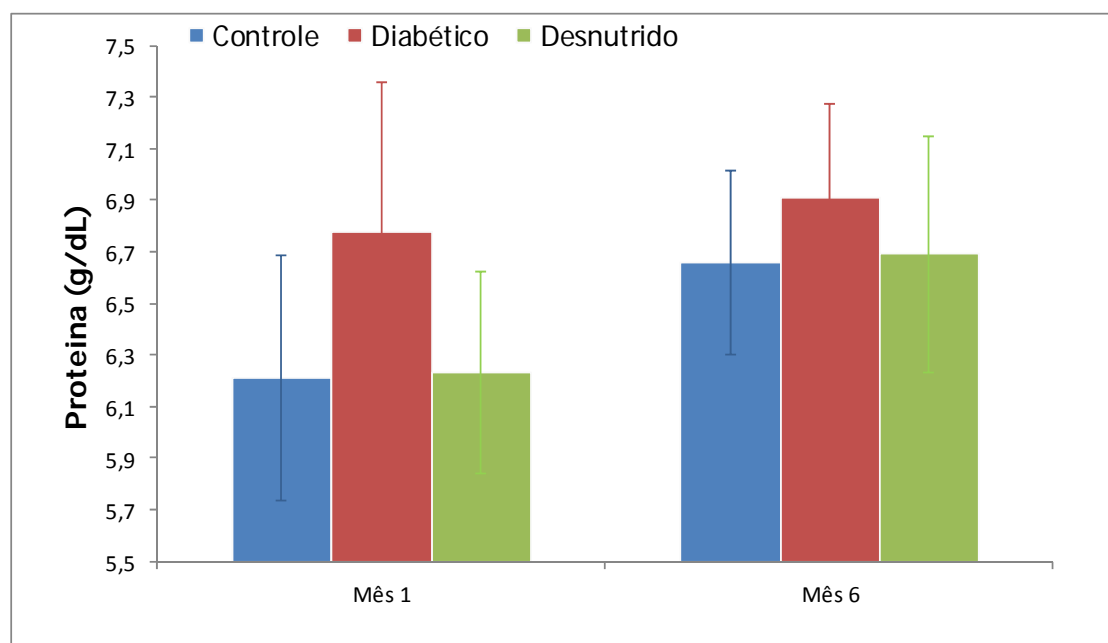
Grupos	Seguimento			
	1º Mês		6º Mês	
Controle	6,21 $\pm$ 0,47	Aa	6,66 $\pm$ 0,36	Ab
Diabético	6,78 $\pm$ 0,58	Aa	6,91 $\pm$ 0,37	Aa
Desnutrido	6,23 $\pm$ 0,39	Aa	6,69 $\pm$ 0,46	Ab

A<sup>(1)</sup>a<sup>(2)</sup>

(1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.

(2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.

**Comentários:** A concentração de proteínas totais (g/dl) não apresentou diferença significativa para os 3 grupos experimentais, nos dois momentos estudados.



**Figura 13:** Evolução da concentração de proteínas totais (g/dl) dos animais dos 3 grupos experimentais, nos períodos analisados: 1 e 6 meses de seguimento.

**Tabela 10:** Médias  $\pm$  desvios-padrão da concentração de albumina (g/dl) nos 3 grupos experimentais, nos respectivos períodos de seguimento.

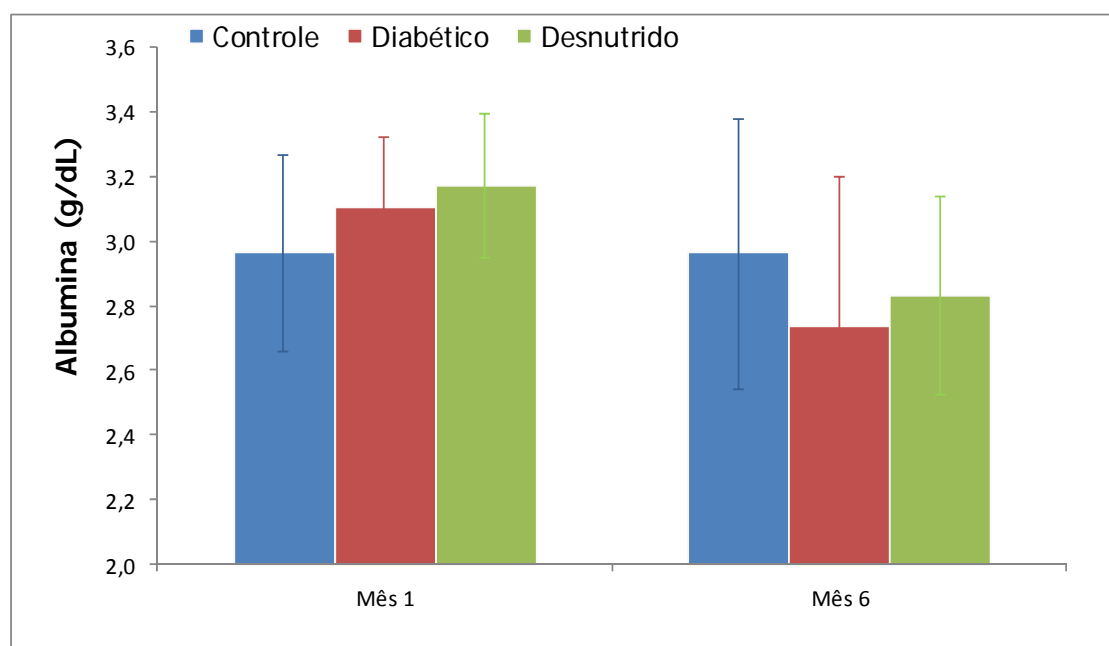
Grupos	Seguimento			
	1º Mês		6º Mês	
Controle	2,96 $\pm$ 0,30	Aa	2,96 $\pm$ 0,42	Aa
Diabético	3,10 $\pm$ 0,22	Aa	2,73 $\pm$ 0,47	Ab
Desnutrido	3,17 $\pm$ 0,22	Aa	2,83 $\pm$ 0,31	Ab

A<sup>(1)</sup>a<sup>(2)</sup>

(1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.

(2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.

**Comentários:** A concentração de albumina (g/dl) não apresentou diferença significativa para os 3 grupos experimentais, nos dois momentos estudados.



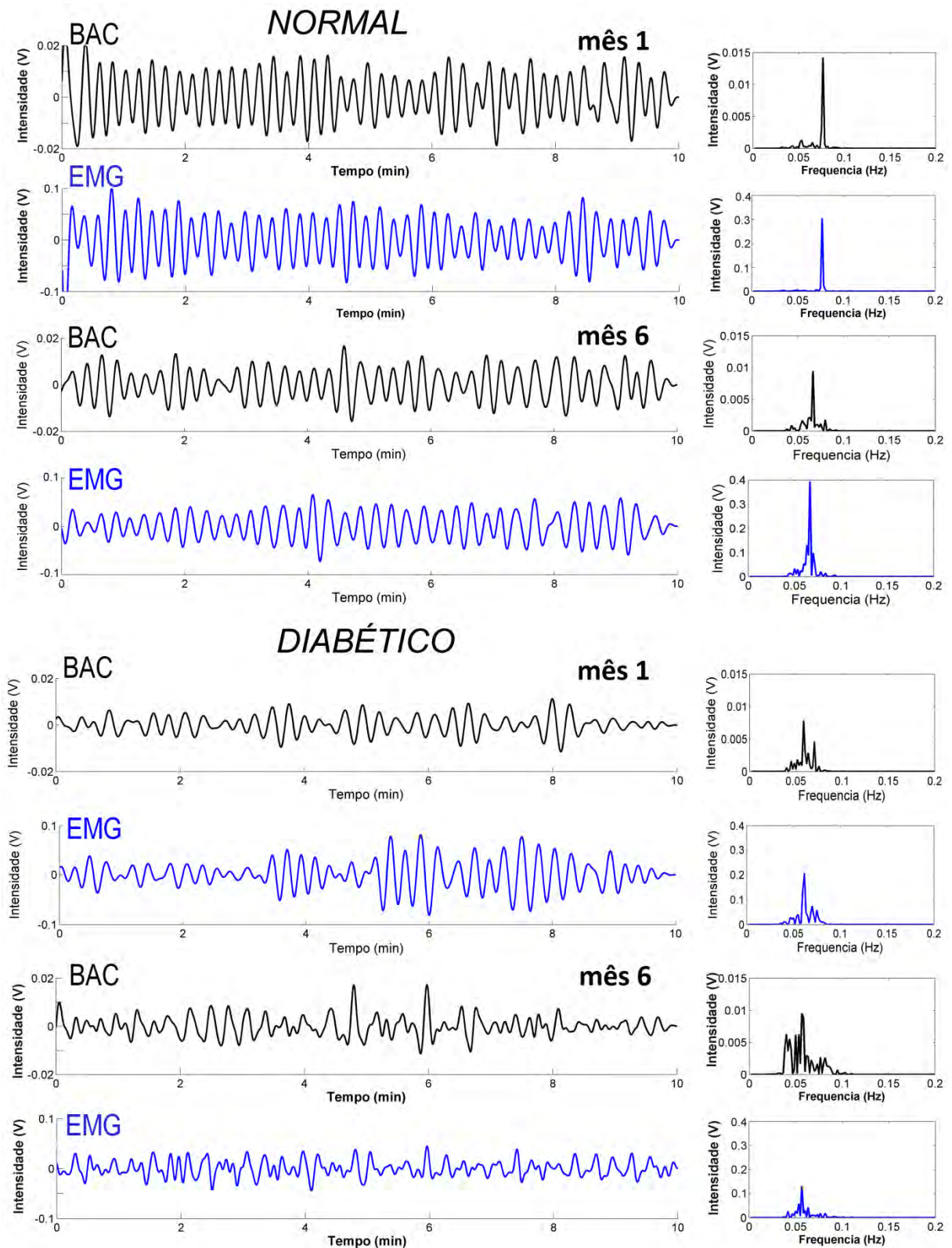
**Figura 14:** Evolução da concentração de albumina (g/dl) dos animais dos 3 grupos experimentais, nos períodos analisados: 1 e 6 meses de seguimento.

## **4.2. Análise dos sinais eletromecânicos obtidos pela BAC e EMG**

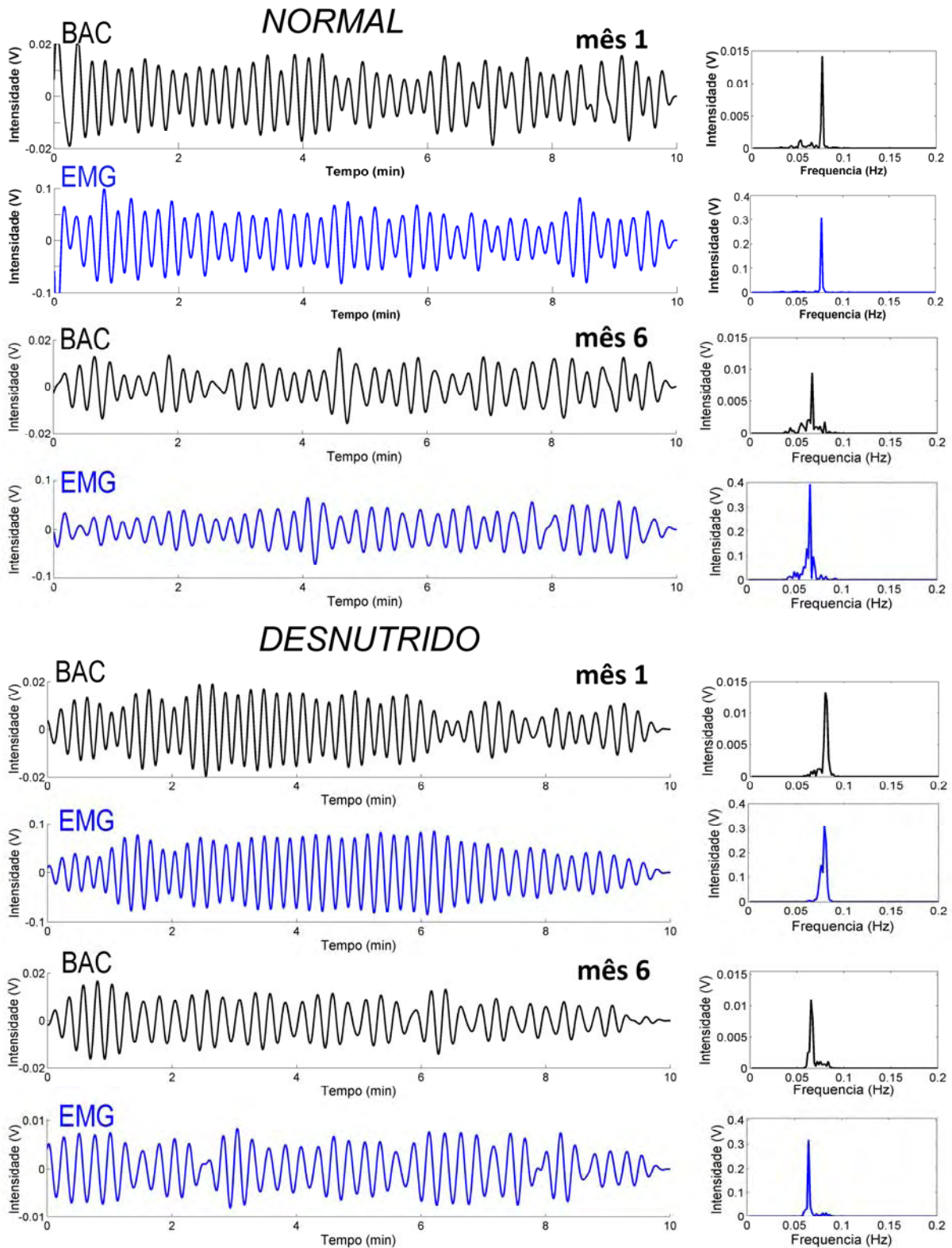
### **4.2.1. Pré-análise qualitativa da contração gástrica**

Em uma pré-análise qualitativa (Reddy et al., 1987) dos registros eletromecânicos das contrações gástricas, observadas na BAC e EMG, em animais dos três grupos experimentais observou-se que os sinais obtidos em ratos diabéticos, 6 meses após a indução do DM, apresentaram um perfil bastante irregular quando comparado ao obtido no 1º mês de instalação da hiperglicemia. Estes sinais se mostraram ainda mais irregulares quando comparados aos animais do grupo controle não-diabético, no 6º mês de seguimento. Notou-se, também, que a morfologia dos sinais em ratos diabéticos encontrava-se completamente alterada, apresentando oscilações de frequência dominante, caracterizadas por períodos de quiescência, alternados com fortes amplitudes localizadas temporalmente. Em ratos desnutridos, por sua vez, não se observou diferença no perfil dos sinais em relação ao grupo controle não diabético.

Em uma análise geral semi-quantitativa, observou-se que o pico da FFT (Fast Fourier Transform), representado pela frequência de contração gástrica, foi extremamente intenso em ratos normais com 1 e 6 meses de seguimento, sendo a morfologia dos sinais captados dotados de base estreita, demonstrando um perfil de frequência alta e constante ao longo do tempo. Em contraste, a frequência de contração gástrica observada em ratos diabéticos, com 1 e 6 meses de seguimento, foi caracterizada por ondas de baixa amplitude, dotadas de bases alargadas, com grandes variações de frequência ao longo do tempo e irregularidade dos sinais. Por outro lado, ratos desnutridos demonstraram mesmo padrão de frequência de contração gástrica que o grupo controle não diabético. As **figuras 15, 16 e 17** ilustram os registros das contrações gástricas obtidos pela BAC e EMG.

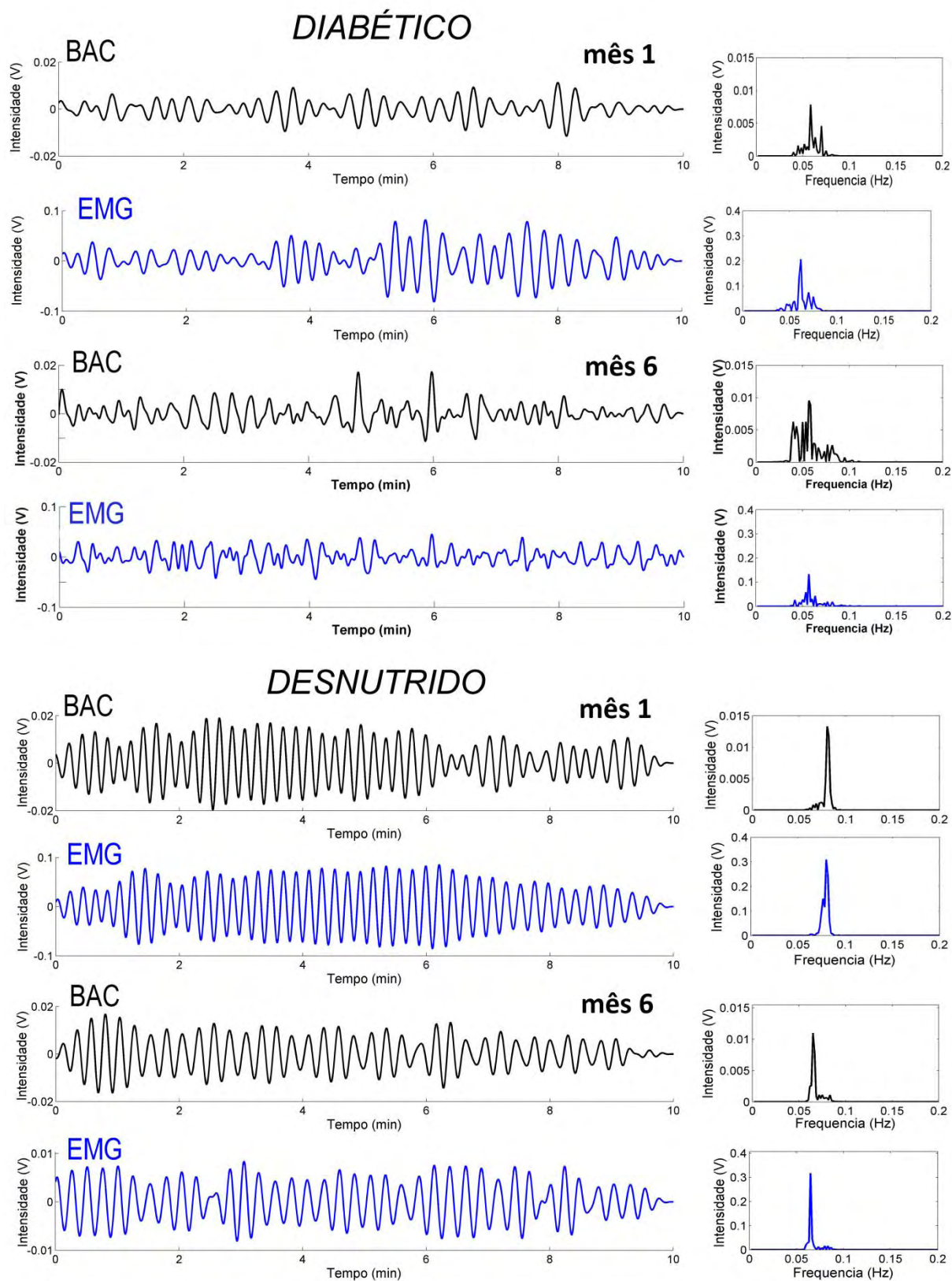


**Figura 15:** Registros obtidos pela BAC (preto) e pelo EMG (azul) no estômago distal de ratos do grupo controle e grupo diabético nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início do experimento. No painel direito observa-se a distribuição em frequência da contração gástrica obtida nesses registros



**Figura 16:** Registros obtidos pela BAC (preto) e pelo EMG (azul) no estômago distal de ratos do grupo normal e grupo desnutrido nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início do experimento. No painel direito observa-se a distribuição em frequência da contração gástrica obtida nesses registros (em torno de 0,065 Hz ou 4,0 cpm).

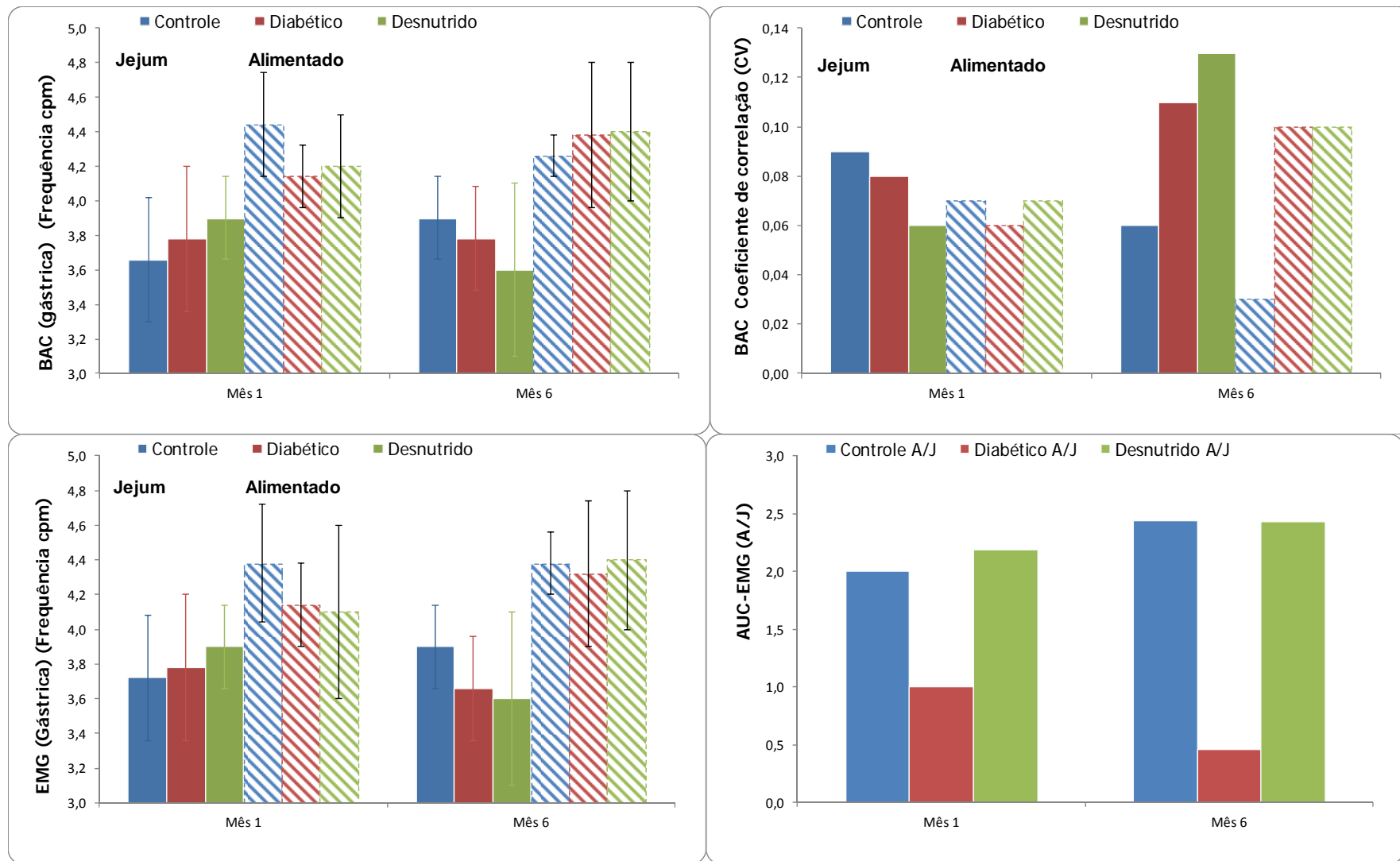




**Figura 17:** Registros obtidos pela BAC (preto) e pelo EMG (azul) no estômago distal de ratos do grupo diabético e grupo desnutrido nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início do experimento. No painel direito observa-se a distribuição em frequência da contração gástrica obtida nesses.

### **4.3. Avaliação quantitativa da frequência de contração gástrica e do coeficiente de variação (CV).**

A frequência de contração gástrica e o seu CV obtidos durante o jejum e após alimentação, em animais dos três grupos experimentais, estão apresentados na **tabela 11** e **figura 18**. Nelas, observa-se que as frequências de contração gástrica obtidas pela BAC e EMG foram mais elevadas durante o período pós-prandial, quando comparadas ao jejum, em todos os grupos analisados, nos dois períodos de seguimento. Outra constatação interessante é que, apesar das diferenças morfológicas dos sinais, não houve diferença estatisticamente significativa na média da frequência de contração gástrica entres os três grupos experimentais, nos dois períodos de avaliação, exceto para o 1º mês do grupo diabético e no 6º mês do grupo controle na BAC. Porém, o CV no grupo diabético, no 6º mês de seguimento, foi maior que o observado, sem significado estatístico, em animais diabéticos no 1º mês do seguimento, e também em relação aos animais normais, com 1 e 6 meses de seguimento. O CV da contração gástrica observada na EMG, em animais do grupo desnutrido, por sua vez, também foi maior que o observado, sem significado estatístico, em ratos controles desde o 1º mês de seguimento. De modo geral, no entanto, o coeficiente de variação dos sinais eletromecânicos, observados em animais diabéticos e desnutridos, sempre esteve aumentado em relação aos animais controles, no 6º mês de seguimento.



**Figura 18:** Médias das frequências de contrações gástricas (cpm) na BAC e EMG nos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.



**Tabela 11:** Média da frequência de contração gástrica em ciclos por minuto (cpm) e coeficiente de correlação obtidos pela BAC e EMG de ratos normais (controle), diabéticos e desnutridos nos dois períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.

Grupos	Jejum				Alimentado								
	1º Mês		6º Mês		1º Mês		6º Mês						
		CV		CV		CV		CV					
Controle	<b>BAC</b>	3,66 ± 00,36	0,09	Aa;a	3,90 ± 00,24	0,06	Aa;a	4,44 ± 00,30	0,07	Aa;a	4,26 ± 00,12	0,03	Ab;b
	EMG	3,72 ± 00,30	0,08	Aa;a	3,90 ± 00,18	0,05	Aa;a	4,38 ± 00,34	0,07	Aa;a	4,38 ± 00,18	0,04	Ab;a
Diabético	<b>BAC</b>	3,78 ± 00,42	0,08	Aa;a	3,78 ± 00,30	0,11	Aa;a	4,14 ± 00,18	0,06	Ba;b	4,38 ± 00,42	0,10	Ab;a
	EMG	3,78 ± 00,30	0,08	Aa;a	3,66 ± 00,48	0,13	Aa;a	4,14 ± 00,24	0,06	Aa;a	4,32 ± 00,42	0,10	Aa;a
Desnutrido	<b>BAC</b>	3,90 ± 00,24	0,06	Aa;a	3,60 ± 00,50	0,13	Ab;a	4,20 ± 00,30	0,07	Aa;a	4,40 ± 00,40	0,10	Aa;a
	EMG	3,90 ± 00,42	0,10	Aa;a	3,60 ± 00,40	0,11	Aa;a	4,10 ± 00,50	0,12	Aa;a	4,40 ± 00,40	0,10	Aa;a

A<sup>(1)</sup>, a<sup>(2)</sup>, a<sup>(3)</sup>

(1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.

(2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.

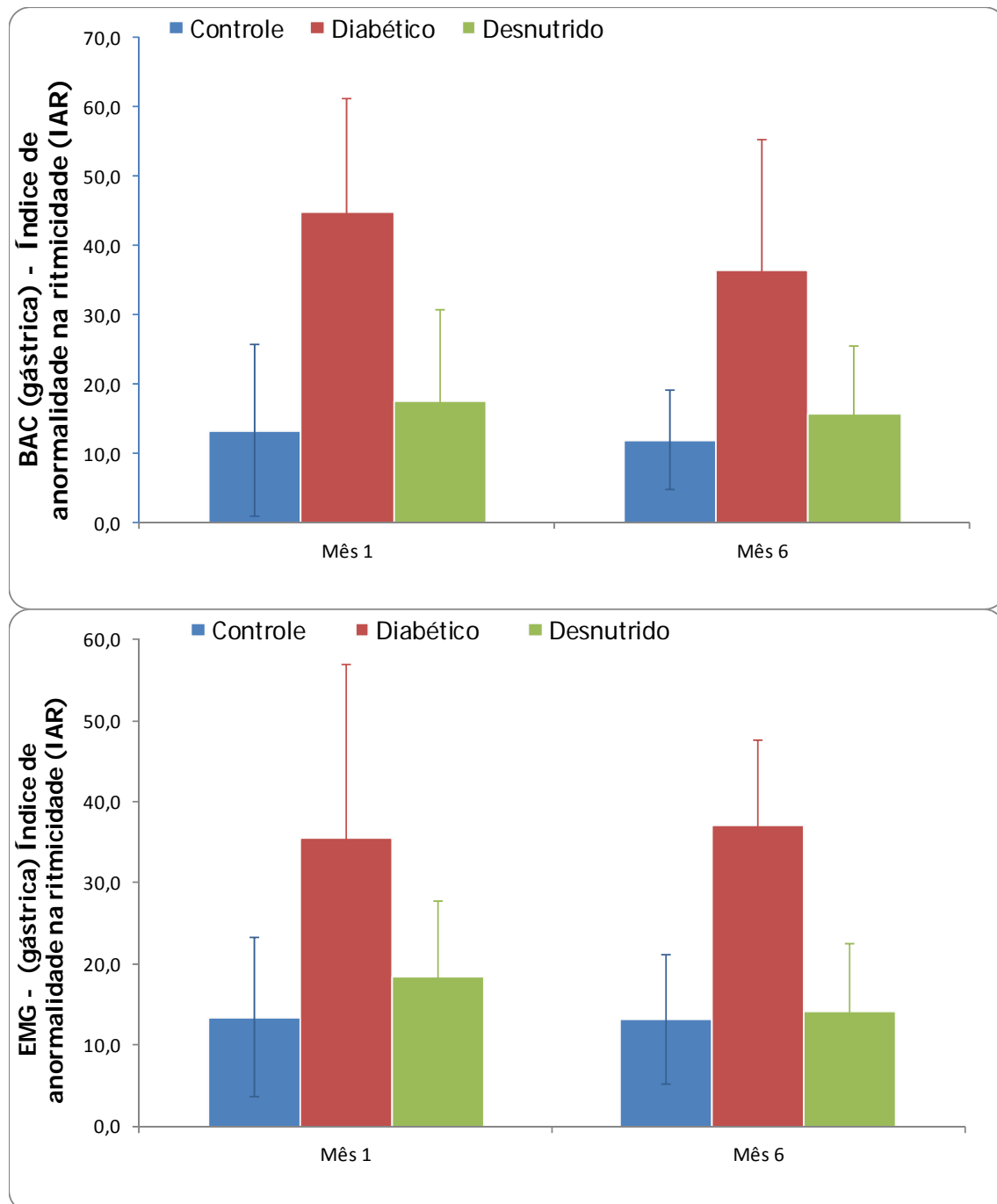
(3) Duas médias, de estados prandiais diferentes, em um mesmo momento, seguidas de uma mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente.

44

**Comentários:** As frequências de contração gástrica obtidas na BAC e EMG foram mais elevadas no período pós prandial em todos os grupos experimentais, porém apenas no grupo diabético do 1º mês e no grupo controle do 6º mês foram significantes estatisticamente.

#### 4.3.1. Índice de anormalidade na ritmicidade da contração gástrica (IAR)

Observou-se que, no período pós-prandial, o IAR da contração gástrica de ratos diabéticos, avaliados pela BAC, foi significativamente ( $P < 0,05$ ) maior em relação aos animais normais e desnutridos, nos dois períodos analisados do experimento. Todavia, o IAR da contração gástrica, observado pela EMG, foi significativamente maior ( $P < 0,01$ ) em animais diabéticos, quando comparado com animais normais e desnutridos, nos dois seguimentos do estudo. A **tabela 12** e a **figura 19** ilustram o índice de anormalidade na ritmicidade da contração gástrica, obtidos pela BAC e EMG, em animais dos grupos normal, desnutridos e diabético, nos dois períodos de seguimento.



**Figura 18:** Índice de anormalidade na ritmicidade (IAR) de contração gástrica obtido para a BAC e EMG nos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.

**Tabela 12:** Índice de anormalidade na ritmicidade (IAR) de contração gástrica obtido para a BAC e EMG em ratos normais (controle) e diabéticos nos dois períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.

Grupos		Seguimento			
		1º Mês		6º Mês	
Controle	<b>BAC</b>	13,33 ± 12,31	Aa	12,00 ± 07,20	Aa
	EMG	13,50 ± 09,80	Aa	13,17 ± 07,99	Aa
Diabético	<b>BAC</b>	44,92 ± 16,18	Ba	36,50 ± 18,70	Ba
	EMG	35,50 ± 21,45	Ba	37,22 ± 10,44	Bb
Desnutrido	<b>BAC</b>	17,55 ± 13,20	Aa	15,80 ± 09,20	Aa
	EMG	18,40 ± 09,35	Aa	14,15 ± 08,30	Aa

A<sup>(1)</sup>, a<sup>(2)</sup>, a<sup>(3)</sup>

(1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.

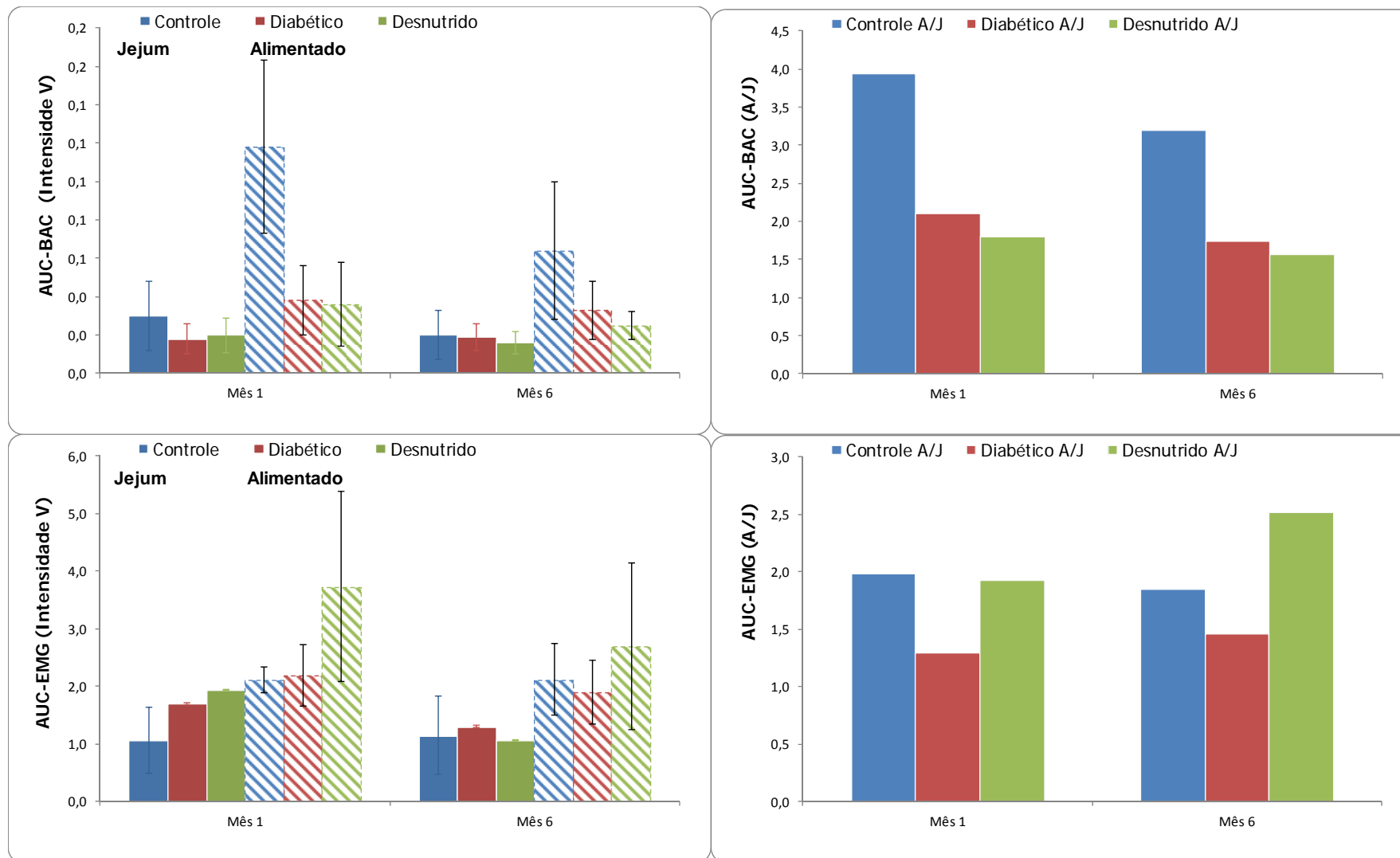
(2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.

**Comentários:** O IAR da contração gástrica foi significativamente maior em relação aos animais do grupo diabético nos dois períodos de seguimento, tanto na BAC como na EMG. Observou-se uma diminuição estatisticamente significativa da EMG do 1º para o 6º mês no grupo diabético.

#### **4.3.1. Amplitude da contração gástrica**

Similarmente à frequência, a amplitude dos sinais de contração gástrica mostrou aumento significativo no período alimentado quando comparado ao jejum, em animais dos três grupos experimentais ( $P < 0,05$ ) na BAC exceto no 6º mês do grupo desnutrido. Na EMG, a amplitude da contração gástrica mostrou um aumento significativo no grupo controle na relação jejum e alimentado no 1º mês, assim como para o grupo diabético e desnutrido no 6º mês. Como a BAC e a EMG são técnicas muito diferentes, os valores da amplitude não podem ser comparados, uma vez que estão em escalas diferentes. No entanto, quando a amplitude da contração gástrica, no período alimentado, foi correlacionada com aquela obtida durante o jejum (relação A/J) valores menores da amplitude dos sinais foram observados em animais do grupo diabético, no 6º mês de seguimento, quando comparados com os observados em animais normais, tanto nos traçados obtidos pela BAC, como pela EMG. Todavia, observou-se que a queda da amplitude da contração gástrica, em animais diabéticos, foi mais acentuada na BAC do que na EMG. Convém destacar, também, que a relação A/J, registrada pela BAC foi maior do que aquela registrada pela EMG, em animais normais, tanto no 1º como no 6º mês de seguimento.

Animais desnutridos, por outro lado, também apresentaram diminuição da relação A/J registrada pela BAC, quando comparados aos animais normais, mas sem significado estatístico. Não houve, porém, diferenças estatisticamente significantes deste parâmetro com a utilização da EMG. A **tabela 13** e a **figura 20** demonstram os achados das amplitudes da contração gástrica, em animais dos três grupos experimentais, nos dois períodos de seguimento.



**Figura 19:** Médias das Amplitudes de contrações gástricas (cpm) na AUC-BAC e AUC-EMG nos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.

**Tabela 13:** Média da amplitude de contração gástrica (V.s) e relação entre intensidades registradas durante o período alimentado e jejum (A/J) obtidos pela BAC e EMG de ratos normais (controle), diabéticos e desnutridos nos dois períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.

Grupos		Jejum		Seguimento		Alimentado		Seguimento		AUC A/J	
		1º Mês		6º Mês		1º Mês		6º Mês		1º Mês	6º Mês
Controle	<b>BAC</b>	0,03 ± 0,018	Aa;a	0,02 ± 0,013	Aa;a	0,12 ± 0,045	Aa;b	0,06 ± 0,036	Aa;b	3,93	3,20
	EMG	1,06 ± 0,573	Aa;a	1,14 ± 0,681	Aa;a	2,11 ± 0,218	Aa;b	2,11 ± 0,622	Ab;a	1,99	1,85
Diabético	<b>BAC</b>	0,02 ± 0,008	Aa;a	0,02 ± 0,007	Aa;a	0,04 ± 0,018	Ba;b	0,03 ± 0,015	Ba;b	2,11	1,74
	EMG	1,69 ± 0,420	Aa;a	1,30 ± 0,441	Aa;a	2,19 ± 0,526	Aa;a	1,90 ± 0,559	Aa;b	1,29	1,46
Desnutrido	<b>BAC</b>	0,02 ± 0,009	Aa;a	0,02 ± 0,006	Aa;a	0,04 ± 0,022	Ba;b	0,03 ± 0,007	Bb;a	1,80	1,56
	EMG	1,94 ± 0,960	Ba;a	1,07 ± 0,423	Ab;a	3,73 ± 1,650	Ba;a	2,69 ± 1,448	Aa;b	1,93	2,52

A<sup>(1)</sup>a<sup>(2)</sup>;a<sup>(3)</sup>

- (1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.  
 (2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.  
 (3) Duas médias, de estados prandiais diferentes, em um mesmo momento, seguidas de uma mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente.

50

**Comentários:** Na BAC, a amplitude da contração gástrica mostrou aumento significativo, no período pós prandial, em todos os grupos experimentais, com exceção do grupo desnutrido. Na EMG ocorreu um aumento estatisticamente significativo na comparação jejum-alimentado, para o grupo controle do mês 1 e para os grupos diabético e desnutrido no mês 6 do seguimento.

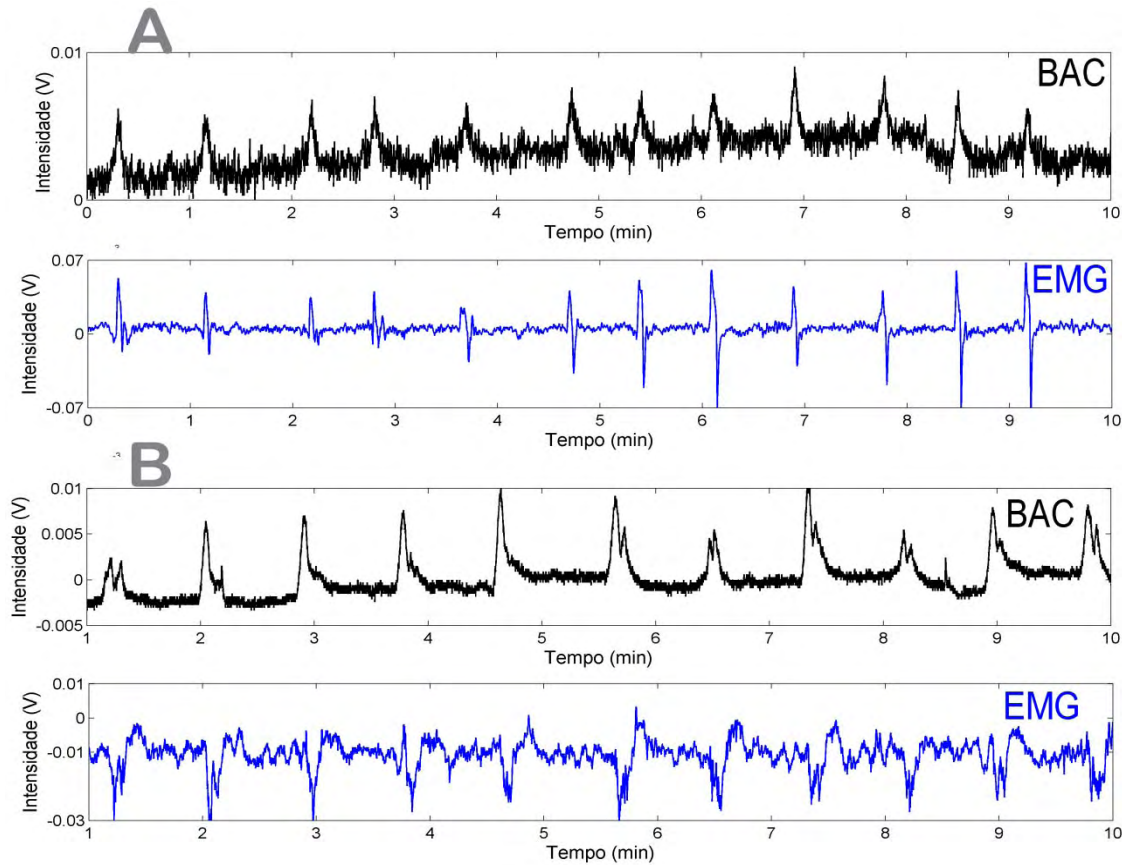
#### 4.4. Pré-análise qualitativa da contração do ceco

Em relação aos registros eletromecânicos obtidos no ceco, observou-se nítida diferença na morfologia dos sinais captados pela BAC e EMG, em animais dos três grupos experimentais, nos dois períodos de seguimento. No ceco, também foi observada uma forte coincidência temporal entre os fenômenos elétricos e mecânicos.

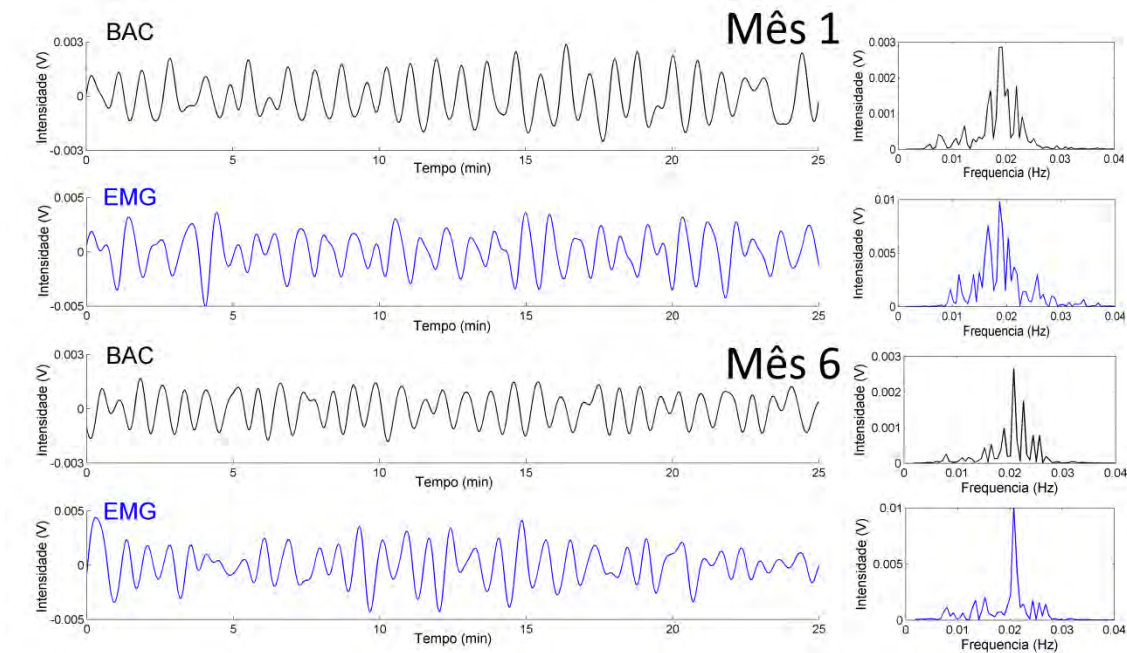
Numa pré-análise descritiva dos sinais captados no ceco, pela BAC e EMG, nos animais dos três grupos experimentais, observou-se que durante os picos de contração cecal as ondas eram dotadas de base alargada, com baixa frequência, havendo pequenas variações na frequência média entre um animal e outro. Neste estudo, observou-se que a atividade eletromecânica do estômago guarda nítida correlação com a atividade observada no ceco, pois os registros das contrações gástricas tanto interferem nas contrações cecais e vice-versa, como reciprocamente se modelam.

A **figura 21** ilustra os registros cecais com sinais eletromecânicos não-filtrados, obtidos pela BAC e EMG, em dois animais controles diferentes, obtidos, respectivamente, com 1 e 6 meses de seguimento experimental. A **figura 22** mostra os registros eletromecânicos com filtragem dos sinais, obtidos em animais controles, com 1 e 6 meses de seguimento. A **figura 23** ilustra o registro simultâneo da atividade gástrica e cecal, obtido em rato do grupo diabético, no 6º mês de seguimento.

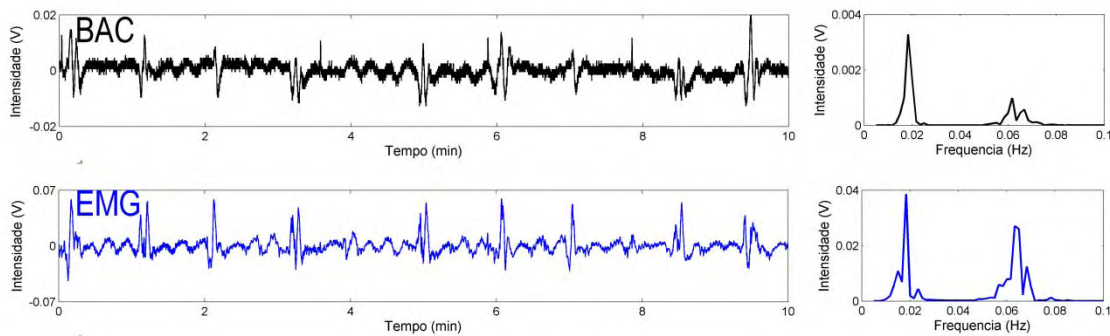




**Figura 20:** Dois exemplos diferentes (A e B) de registros cecais não filtrados obtidos pela BAC (preto) e EMG (azul) em animais do grupo controle. Nota-se a diferença na morfologia entre sinais mecânicos e elétricos, bem como uma alta coincidência temporal entre ambos os eventos.



**Figura 21:** Sinal típico após filtragem obtido no ceco pela BAC (preto) e EMG (azul) em animais do grupo controle, nos dois períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos. No painel direito observa-se a distribuição em frequência da contração gástrica obtida nesses registros (em torno de 0,02 Hz ou 1,2 cpm).

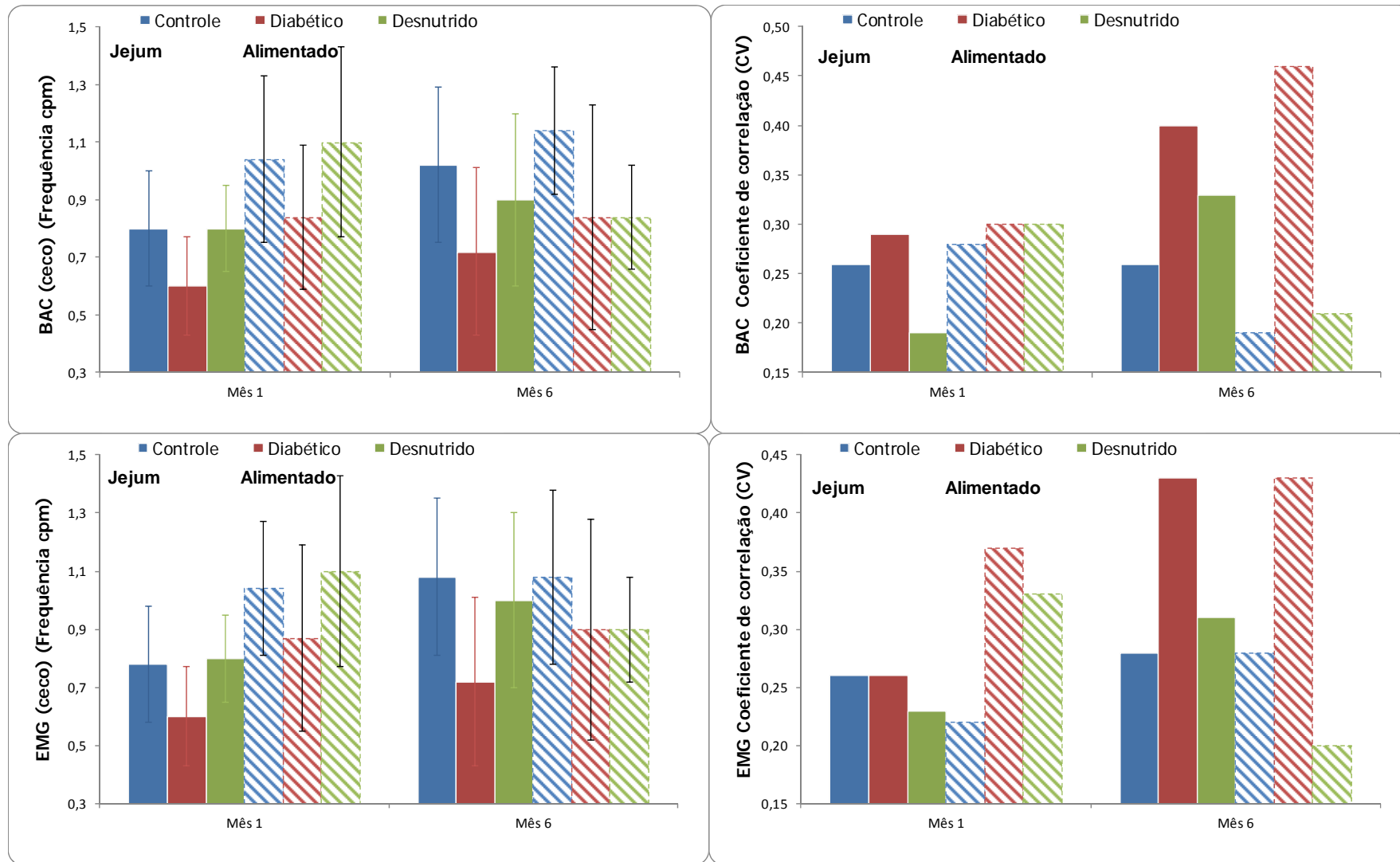


**Figura 22:** Exemplo de um registro simultâneo da atividade gástrica e cecal em ratos diabéticos analisados no mês 6, obtidos pela BAC (preto) e EMG (azul). No painel direito observa-se a sobreposição de duas distribuições em frequência representando contrações do ceco (em torno de 0,02 Hz ou 1,2 cpm) e do estômago (em torno de 0,06 Hz ou 3,6 cpm) em um mesmo registro.

#### 4.4.1. Avaliação quantitativa da frequência de contração colônica (ceco)

Similarmente à contração gástrica, a frequência de contração do ceco se mostrou mais elevada durante o período pós-prandial do que no jejum, em todos os grupos analisados, tanto para a BAC quanto para o EMG. Todavia, os valores encontrados da frequência não foram estatisticamente significantes ( $P < 0,05$ ) em todos os grupos experimentais, exceto para o grupo desnutrido do mês 1 do seguimento na BAC, e para os grupos diabéticos e desnutrido do 1º e 6º mês de seguimento na EMG.

Observou-se, também, que animais dos grupos diabético e desnutrido apresentaram diminuição da frequência de contração cecal ( $< 1,0$  cpm) em relação aos animais normais ( $\geq 1,0$  cpm). Porém, o CV das contrações colônicas foi maior, mas sem significado estatístico, no grupo diabético aos 6 meses de seguimento, quando comparado com o grupo normal e diabético com 1 mês de seguimento. O grupo desnutrido, por sua vez, não apresentou alterações no CV, em relação ao grupo controle, em ambos períodos de seguimento. A **tabela 14** e a **figura 24** demonstram a frequência de contração do ceco, registrada pela BAC e EMG, em animais dos três grupos experimentais, nos períodos de jejum e alimentado, com 1 e 6 meses de seguimento experimental.



**Figura 23:** Médias das frequências de contrações (cpm) na BAC e EMG cecal nos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.

**Tabela 14:** Média da frequência de contração cecal em ciclos por minuto (cpm) e coeficiente de correlação obtidos pela BAC e EMG de ratos normais (controle), diabéticos e desnutridos nos dois períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos

Grupos	Jejum				Alimentado								
	1º Mês		6º Mês		1º Mês		6º Mês						
	BAC	EMG	CV	CV	BAC	EMG	CV	CV					
Controle	BAC	0,80 ± 00,20	0,26	Aa;a	1,02 ± 00,27	0,26	Aa;a	1,04 ± 00,29	0,28	Aa;a	1,14 ± 00,22	0,19	Aa;a
	EMG	0,78 ± 00,20	0,26	Aa;a	1,08 ± 00,30	0,28	Aa;a	1,04 ± 00,23	0,22	Aa;a	1,08 ± 00,30	0,28	Aa;a
Diabético	BAC	0,60 ± 00,17	0,29	Ba;a	0,72 ± 00,29	0,40	Aa;a	0,84 ± 00,25	0,30	Aa;a	0,84 ± 00,39	0,46	Aa;a
	EMG	0,60 ± 00,16	0,26	Aa;a	0,72 ± 00,31	0,43	Bb;a	0,87 ± 00,32	0,37	Aa;b	0,90 ± 00,90	0,43	Aa;b
Desnutrido	BAC	0,80 ± 00,15	0,19	Aa;a	0,90 ± 00,30	0,33	Ab;a	1,10 ± 00,33	0,30	Aa;b	0,84 ± 00,18	0,21	Ab;a
	EMG	0,80 ± 00,18	0,23	Aa;a	1,00 ± 00,30	0,31	Aa;a	1,10 ± 00,33	0,33	Aa;b	0,90 ± 00,90	0,20	Ab;b

A<sup>(1)</sup>, a<sup>(2)</sup>, a<sup>(3)</sup>

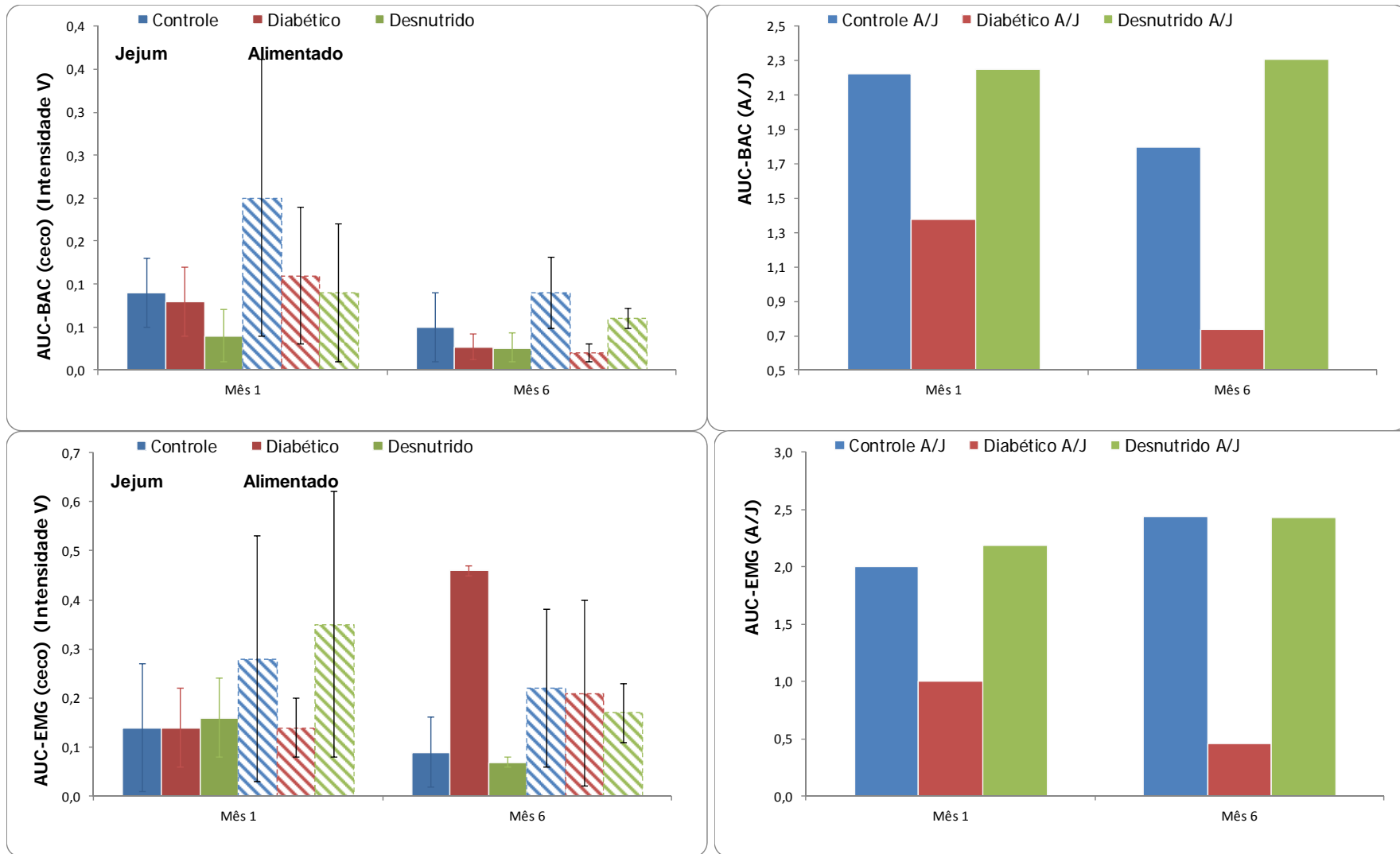
- (1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.  
 (2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.  
 (3) Duas médias, de estados prandiais diferentes, em um mesmo momento, seguidas de uma mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente.

55

**Comentários:** Na BAC, a frequência de contração do ceco no grupo diabético em jejum difere estatisticamente em relação aos grupos normal e desnutrido no 1º mês de seguimento. Na relação jejum alimentado na BAC, teve um aumento estatisticamente significativo no grupo desnutrido. Na EMG ocorreu um aumento significativo nos grupos diabético e desnutrido na comparação jejum-alimentado no mês 6 do seguimento.

#### 4.4.2. Amplitude da contração do ceco

A amplitude de contração cecal se mostrou significativamente aumentada, na BAC e EMG, no período alimentado quando comparada ao jejum, nos grupos normal, diabético e desnutrido, no mês 1 do seguimento, com exceção do grupo diabético na EMG. Por outro lado, ao contrário do observado no estômago, observou-se um aumento na amplitude das contrações cecais, em animais do grupo diabético, durante o período de jejum, quando comparada ao período alimentado no 6º mês, tanto na BAC como EMG. Porém é estatisticamente significante na EMG. Como consequência, a razão A/J foi significativamente reduzida no grupo diabético, quando comparada ao grupo normal, notadamente no 6º mês de seguimento do experimento ( $P < 0,05$ ). A **tabela 15** e a **figura 25** demonstram as medidas da amplitude da contração cecal, obtidas pela BAC e EMG, em animais dos três grupos experimentais, nos dois períodos de seguimento.



**Figura 24:** Médias das Amplitudes de contrações cecal (cpm) na AUC-BAC e AUC-EMG nos animais nos períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos

**Tabela 15:** Média da amplitude de contração cecal (V.s) e relação entre intensidades registradas durante o período alimentado e jejum (A/J) obtidos pela BAC e EMG de ratos normais (controle), diabéticos e desnutridos nos dois períodos analisados: 1 e 6 meses após o início dos experimentos.

Grupos		Jejum		Seguimento		Alimentado		Seguimento		AUC A/J	
		1º Mês		6º Mês		1º Mês		6º Mês		1º Mês	6º Mês
Controle	<b>BAC</b>	0,09 ± 0,040	Aa;a	0,05 ± 0,040	Aa;a	0,20 ± 0,161	Aa;b	0,09 ± 0,041	Ab;a	2,22	1,80
	EMG	0,14 ± 0,130	Aa;a	0,09 ± 0,071	Ab;a	0,28 ± 0,250	Aa;b	0,22 ± 0,160	Aa;a	2,00	2,44
Diabético	<b>BAC</b>	0,08 ± 0,040	Aa;a	0,03 ± 0,015	Ab;a	0,11 ± 0,080	Aa;b	0,02 ± 0,010	Bb;a	1,38	0,74
	EMG	0,14 ± 0,090	Aa;a	0,46 ± 0,450	Bb;a	0,14 ± 0,060	Aa;a	0,21 ± 0,190	Ab;b	1,00	0,46
Desnutrido	<b>BAC</b>	0,04 ± 0,030	Ba;a	0,03 ± 0,017	Aa;a	0,09 ± 0,080	Aa;b	0,06 ± 0,012	Cb;a	2,25	2,31
	EMG	0,16 ± 0,110	Aa;a	0,07 ± 0,043	Ab;a	0,35 ± 0,270	Aa;b	0,17 ± 0,060	Ab;a	2,19	2,43

A<sup>(1)</sup>a<sup>(2)</sup>,a<sup>(3)</sup>

(1) Grupos experimentais representados por médias, seguidas de uma mesma letra maiúscula, dentro de cada momento, não diferem estatisticamente.

(2) Momentos representados por médias, seguidas de uma mesma letra minúscula, dentro de cada grupo experimental, não diferem estatisticamente.

(3) Duas médias, de estados prandiais diferentes, em um mesmo momento, seguidas de uma mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente.

58

**Comentários:** Na BAC, a amplitude da contração cecal, na comparação jejum-alimentado mostrou um aumento significativo em todos os grupos do mês 1 e sem significância para o mês 6. Na EMG mostrou aumento significativo para os grupos controle e desnutrido para o mês 1 e para os grupos controle e diabético no mês 6.



*Discussão*



## 5. DISCUSSÃO

Nesse estudo demonstramos a aplicabilidade e acurácia da biosusceptometria AC (BAC) para monitorar direta e continuamente as contrações da parede gástrica e cecal de ratos.

Diferentemente de outros sensores magnéticos, o sensor da BAC não se destina apenas a detectar o campo magnético gerado pela atividade elétrica do trato gastrointestinal (TGI). Assim, as características deste método, por si só, indicam que os sinais registrados pela BAC são fisiologicamente significativos e são, de fato, gerados pelos movimentos dos marcadores magnéticos causados diretamente pelas contrações intestinais (AMÉRICO et al., 2010).

Assim, a implantação de material magnético, bem como de eletrodos na serosa gástrica e do ceco, permitiram avaliar pontualmente a atividade eletromecânica destas vísceras no rato, tanto durante o jejum quanto no período pós-prandial, após a ingestão de uma refeição padronizada. Também obtivemos resultados muito interessantes aplicando a BAC associada a eletromiografia (EMG) nestes animais, visando comparar a motilidade do TGI em três grupos distintos de animais, no 1º e 6º mês de seguimento.

Roedores, em geral, têm sido muito utilizados atualmente nos estudos da motilidade digestiva, embora o padrão normal de contração gastrointestinal ainda não tenha sido completamente definido. As discordâncias em termos dos fenômenos motores e da nomenclatura dos achados elétricos e/ou mecânicos são maiores para as regiões mais distais do tubo digestivo – como o ceco – do que para as regiões proximais do TGI.

Assim, na ausência de uma padronização adequada, torna-se difícil extrapolar os dados obtidos nesses animais para outras espécies (LI et al., 2002). Nesse sentido, há grande interesse em compreender melhor a atividade de contração de todos os segmentos do TGI de ratos como forma de utilizar de maneira apropriada esse modelo.

O diabetes é uma doença crônica cujas manifestações patológicas sobre rins, retina, vasos e nervos estão diretamente associadas ao tempo de exposição às anormalidades metabólicas causadas pela doença (DE OLIVEIRA & MILECH, 2004). Desta forma, optou-se pelo acompanhamento dos animais deste estudo durante 6

meses, tanto os normais, sujeitos às variações decorrentes da idade, quanto àqueles submetidos a um grau elevado de hiperglicemia, ou desnutrição.

O diabetes mellitus (DM) está frequentemente associado a sintomas e distúrbios da motilidade gastrointestinal, e pode ser induzido, em ratos, a partir de modelos tradicionais e largamente utilizados (SAMSOM et al., 2009, LERCO ET AL., 2003). Desordens gastrointestinais como gastroparesia, constipação e diarreia são comuns em diabéticos, tanto em humanos quanto em modelos experimentais (LIU et al., 1990).

Os parâmetros clínicos e bioquímicos observados nos animais diabéticos deste estudo corresponderam às alterações frequentemente observadas em pacientes com diabetes tipo 1 (DM1) descompensado, ratificando a eficácia da aloxana na produção de um modelo experimental apropriado para o estudo das lesões diabéticas crônicas.

Entre as alterações clínicas, a perda de peso foi um achado comum em nossos animais diabéticos. Segundo COSTA & ALMEIDA NETO (2004), ela está relacionada ao aumento do catabolismo proteico e, principalmente, ao aumento da lipólise, em resposta à falta de glicose intracelular. A poliúria, outro achado neste estudo, está relacionada a diurese osmótica que ocorre em consequência da grande concentração de glicose no filtrado glomerular, ocasionando a glicosúria (DE OLIVEIRA & MILECH, 2004). Este aumento da diurese leva à desidratação intracelular, que é percebida pelos osmorreceptores cerebrais, desencadeando sede intensa (DAVIDSON, 2001; DE OLIVEIRA & MILECH, 2004).

Animais diabéticos também apresentaram polifagia. O aumento da ingestão alimentar deve-se à diminuição da produção e/ou da ação da insulina, com diminuição da disponibilidade de glicose no interior das células, levando ao aumento do apetite (COSTA & ALMEIDA NETO, 2004).

A despeito da perda de peso, animais diabéticos não apresentaram diferenças significantes nas concentrações séricas de proteínas totais e albumina, nos diferentes momentos analisados. O mesmo ocorreu com animais do grupo desnutrido, quando comparados ao do grupo normal. Em indivíduos com DM1, a diminuição acentuada da insulina tem como consequência o aumento do catabolismo de proteínas, inibição de sua síntese e aumento da liberação de aminoácidos no plasma. Estes aminoácidos são utilizados para a produção de

energia ou como substrato para a neoglicogênese (SHERWIN et al., 1995). Outros estudos com animais diabéticos, porém, corroboram nossos resultados (DAMASCENO et al., 2002; SOUZA et al., 2010). Além disso, a ausência de alterações nos animais desnutridos pode indicar que apesar da restrição calórica, quantidades suficientes de proteínas podem ter sido disponibilizadas pela dieta e, portanto, não interferiram nas concentrações de proteínas totais e albumina (LUNN & AUSTIN, 1983).

Entre as anormalidades causadas pelo DM na motilidade do TGI superior, destaca-se o atraso no esvaziamento gástrico, que ocorre em cerca de 50% dos casos (SAMSOM et al., 1997). A causa desse esvaziamento lentificado ainda é alvo de muitas especulações, pois embora pareça associado à gastroparesia (ELIASSON et al., 1995), que pode ser desenvolvida como consequência da neuropatia autonômica diabética ou não (SAMSOM et al., 2009, LONG et al., 2004), suas causas também parecem interligadas à hiperglicemia, hiperinsulinemia e algumas anormalidades em certos neuropeptídeos (ENDO et al., 2005; ELIASSON et al., 1995; ISHIGUCHI et al., 2002). Cerca de 70% dos pacientes com gastroparesia diabética apresentam taquigastria e bradigastria, ou seja, aumento e diminuição da frequência de contração do estômago durante certo período, respectivamente (OWYANG & HASLER, 2002). Nossos dados mostraram que em animais diabéticos cerca de 40% da frequência de contração gástrica é anormal, ou seja, apresenta disritmia com episódios de taquigastria e/ou bradigastria.

Alguns estudos clínicos e experimentais que avaliaram o efeito da hiperglicemia sobre a motilidade digestiva (ELIASSON et al., 1995; ISHIGUCHI et al., 2002; HASLER et al., 1995; SAMSOM et al., 1997) mostram resultados controversos. HASLER et al. (1995) utilizando a eletrogastrografia (EGG) em indivíduos normais, e em pacientes diabéticos mantidos em normoglicemia e hiperglicemia, mostraram somente uma tendência de aumento na frequência gástrica durante o estado pós-prandial nessas condições.

ISHIGUCHI et al. (2002), por outro lado, observaram um aumento da frequência de contração gástrica, com diminuição da amplitude durante a hiperglicemia. Outras hipóteses que permeiam a questão afirmam que alterações regionais da motilidade gástrica, com hipercontratilidade pilórica e hipo ou normocontratilidade antral e/ou fúndica são as responsáveis pelas alterações no

esvaziamento gástrico (JAMES et al., 2004). Assim, a disfunção da musculatura gástrica ainda não foi bem caracterizada em todos os modelos de ratos diabéticos (JAMES et al., 2004). Nesse sentido, convém estudar detalhadamente a motilidade intrínseca da musculatura gástrica desses indivíduos com controle glicêmico alterado, dando-se ênfase à atividade elétrica e mecânica, e não apenas ao esvaziamento gástrico (CUCCHIARA et al., 1998). Segundo KOCH et al. (1989), são as disritmias que causam os sintomas mais desagradáveis aos pacientes e não o esvaziamento gástrico lentificado.

Diversos estudos demonstraram que a frequência da atividade motora do estômago, jejuno, íleo e cólon encontra-se reduzida em ratos diabéticos, quando avaliada pela medida da pressão intraluminal (KARAKIDA & HOMMA, 1989). No entanto, um dos nossos resultados mais intrigantes consiste no fato de que a média da frequência de contração gástrica não foi alterada significativamente nestes animais quando comparados aos animais normais, tanto nas avaliações feitas pela BAC, como pela EMG.

Chama-nos à atenção, porém, que a despeito da inexistência de alterações quantitativas na frequência de contração gástrica de ratos diabéticos, estes animais apresentaram marcadas alterações morfológicas dos sinais elétricos e mecânicos captados na parede gástrica. LONG et al. (2004), também já haviam observado este fato estudando a disritmia gástrica e o papel das células intersticiais de cajal em ratos diabéticos.

Em nosso estudo observou-se intensa irregularidade na atividade eletromecânica da contração gástrica em ratos diabéticos, no 1º mês de seguimento, e principalmente no 6º mês de seguimento, quando comparada aos ratos normais. JAMES et al., (2004), porém, em estudos *in vitro*, não observaram diferenças significantes na contratilidade antral de ratos normais e diabéticos

O estado prandial também deve ser considerado na análise da motilidade gástrica, pois, mesmo sob condições fisiológicas os padrões motores de contração, nos períodos de jejum e alimentado, são controlados por mecanismos diferentes (KIHARA et al., 2001). Os resultados obtidos mostraram aumento das médias da frequência e amplitude de contração gástrica no estado pós-prandial, em relação ao jejum, em ratos normais, diabéticos e desnutridos, estando de acordo com estudos realizados anteriormente. (BUENO et al., 1981; KANEKO et al., 2001).

Todavia, LONG et al. (2004) consideram que mais representativo do que a frequência de contração gástrica é o seu coeficiente de variação que, em nosso estudo, se mostrou aumentado no grupo diabético (sem significado estatístico), nas duas técnicas empregadas. O CV reflete melhor o perfil dos sinais eletromecânicos, pois, apesar de o pico de contração dominante na FFT ser muito parecido em ratos normais, desnutridos e diabéticos, nestes últimos, as ondas registradas possuem bases muito alargadas, devido a grande variabilidade de frequências encontradas durante o tempo de registro. Em ratos normais e desnutridos, por outro lado, observou-se que o perfil de registro eletromecânico obtido foi quase que exclusivamente formado por uma frequência dominante, notando-se um pico com base estreita.

Nesse mesmo contexto, a razão A/J (relação entre a intensidade da contração no período alimentado e jejum) também parece interessante para avaliar variações na amplitude das contrações entre os grupos normais, desnutridos e diabéticos. Os valores da relação A/J foram menores para os diabéticos e desnutridos, no 6º mês de seguimento, registrados por ambas as técnicas, principalmente no que concerne a BAC. Essa razão reflete a baixa variação na amplitude da contração gástrica registrada, quando uma refeição padronizada é ingerida, em relação ao jejum. Isso significa que a amplitude da contração gástrica em animais diabéticos não alcança valores máximos e mínimos em resposta ao estado prandial como deveria. Em animais normais espera-se que após uma refeição todos os índices que determinam variação da amplitude de contração aumentem, em todas as técnicas de registros, pois, simbolizam um aumento da contratilidade e/ou distensão do órgão provocado pela presença do alimento. (BUENO et al., 1981). CUCCHIARA et al. (1998) também registraram uma baixa relação A/J por meio de eletrogastrografia (EGG) em crianças diabéticas, além de alta taxa de disritmias.

Uma ferramenta de análise que vem sendo utilizada em estudos empregando registros elétricos – como a eletrogastrografia – é a determinação do índice de anormalidade na ritmicidade (IAR) da contração gástrica. No IAR calcula-se a porcentagem de frequência contrátil fora da faixa de variação considerada normal para o estômago, por exemplo. Em nosso estudo observou-se que, no período pós-prandial, o IAR em ratos diabéticos foi significativamente maior em relação aos animais normais e desnutridos. Interessante observar que o IAR registrado pela

BAC, em ratos diabéticos, em ambos estados prandiais, esteve significativamente aumentado em relação aos ratos normais, no 1º e no 6º mês de seguimento. Já para a EMG, porém, as diferenças só foram significantes no 6º mês de seguimento.

Convém salientar que alguns estudos enfatizam a avaliação da atividade elétrica ou mecânica isoladamente, mas nossos resultados deixam clara a inter-relação entre os dois fenômenos e a necessidade de acompanhá-los simultaneamente para compreender realmente certos aspectos da motilidade (LI et al., 2002).

Há décadas sabe-se que não há correlação completa entre a atividade elétrica e mecânica em ratos normais, nem mesmo no estômago (BUENO et al., 1981). As relações entre ambos os registros são de difícil interpretação e a atividade de contração visceral pode refletir uma fusão de diversas atividades elétricas, além de sofrer, também, influência da atividade tônica (BUENO et al., 1981).

Por esta razão, protocolos de estudos eletromecânicos envolvendo anestesia com pentobarbital, como o utilizado neste trabalho, é considerado elemento imprescindível para maximizar a comparação pontual (“*head-to-head study*”) entre a BAC e EMG. Este tipo de protocolo torna possível obter uma correlação direta entre as disritmias elétricas e a contrações mecânicas (XING et al., 2006). Além disso, esse tipo de anestésico é o mais utilizado nesse tipo de estudo, pois apresenta menos efeitos sobre a motilidade gastrointestinal.

Em uma análise das alterações da motilidade gástrica observadas nos ratos diabéticos deste estudo é possível inferir que a frequência de contração mecânica do estômago foi maior do que a observada em ratos normais e desnutridos. Essas alterações mecânicas são mais intensas do que as perturbações elétricas podendo ser observadas desde o 1º mês de diabetes. Essa ocorrência mais pronunciada no componente mecânico da contração pode ser o fator causador de uma motilidade errônea e irregular, podendo apresentar como consequência um trânsito gastrointestinal lentificado. Além disso, esses dados reforçam a necessidade de modelos multi-instrumentais, como o proposto nesse estudo, para abranger todos os aspectos envolvidos no fenômeno da contração e melhor analisá-la.

Em relação ao TGI inferior, diversos mecanismos neurogênicos e miogênicos têm sido propostos na literatura sem que haja uma concordância sobre a melhor nomenclatura para designar a motilidade colônica de roedores. Este fato traz

discrepâncias entre os estudos de motilidade *in vivo* e *in vitro* do cólon, mesmo entre espécies diferentes de roedores (ALBERTI et al., 2005). Considerando ratos normais, duas frequências de contração têm sido documentadas em camadas musculares distintas do cólon. Este tipo de atividade, no entanto, tem sido melhor estudado em cães (PLUJÀ et al., 2001; SARNA, 1991). Dois padrões de atividade elétrica e mecânica parecem estar presentes no cólon de cães: contrações de baixa frequência (0,5 -3,7 cpm) com alta amplitude, e contrações de alta frequência (8-15 cpm) com baixa amplitude (ALBERTÍ, et al., 2005; PLUJÀ et al., 2001). Essas faixas de frequência apresentam grande variabilidade de acordo com o tipo de estudo executado, sendo que os dois padrões podem ser obtidos em registros elétricos na camada muscular circular, quando todas as estruturas estão intactas. Nossos resultados condizem com esses estudos, pois a baixa frequência (em torno de 1,3 cpm) foi registrada e quantificada em todos os animais, do experimento, destacando-se pela alta amplitude.

Sabe-se que ratos apresentam padrões de defecação e formato das fezes bem diferentes do homem e do cão. Três tipos de contração foram registrados no cólon intacto desses animais: contrações fásicas rítmicas e tônicas, e contrações gigantes e migratórias (GMC). Os padrões espaciais e temporais dessas contrações, sua regulação eletrofisiológica e as vias de sinalização celular diferem muito (LI et al., 2002). As contrações fásicas, reguladas pelas ondas lentas, estão presentes em ratos, como demonstrado em nossos dados, mas predominam apenas no homem e em cães. As contrações tônicas não são reguladas por ondas lentas e seu papel ainda é incerto. Sabe-se, porém, que atuam na redução do tamanho do lúmen do cólon visando a aumentar a propulsão e trituração da massa fecal. As GMC têm grande amplitude e se propagam por longas distâncias, produzindo movimentos de massa. Estas ondas são capazes de ocluir o lúmen colônico.

As GMC precedem a defecação e também não são reguladas pelas ondas lentas, embora o mecanismo mioelétrico associado a elas ainda seja desconhecido. Convém destacar que, no rato, as GMC são predominantes sobre os outros dois tipos de contração, fato que oferece uma grande oportunidade para se estudar esse tipo de contração, sua função e regulação (Li et al., 2002).

Interessante observar que sinais eletromecânicos registrados no ceco apresentam uma grande diferença no perfil morfológico (FERRÉ & RUCKEBUSH,

1985), embora, com forte correspondência temporal entre a atividade elétrica (EMG) e a mecânica (BAC), traduzida por contrações cecais, com frequências situadas na faixa de 1,3 cpm (FERRÉ & RUCKEBUSCH, 1985, LIU et al., 1990; MEILE et al., 2006).

Em outros segmentos do cólon, porém, parece não haver correlação entre a atividade elétrica e mecânica como nas regiões mais proximais (FERRÉ & RUCKEBUSCH, 1985). Entretanto, novos estudos *in vivo* precisam ser realizados para interpretação adequada desses achados. Tais discrepâncias podem ocorrer por dificuldades metodológicas e diferenças entre sinais elétricos e mecânicos devido à quantidade e dureza do material fecal no cólon (FERRÉ & RUCKEBUSCH, 1985). Em relação às frequências contráteis cecais, alguns investigadores têm desprezado os eventos de baixa frequência (HUIZINGA & DANIEL, 1986). No entanto, contrações em torno de 1 cpm estiveram presentes em todos os nossos registros, havendo grande interesse na literatura em verificar se essa frequência registrada reflete verdadeiramente uma atividade mioelétrica proveniente do cólon (CHANG et al., 2007).

Como no caso das frequências gástricas, nossos resultados mostraram frequências cecais mais elevadas durante o período pós-prandial quando comparadas ao jejum, em todos os grupos analisados, tanto pela BAC quanto pela EMG. Entretanto, isso ocorreu significativamente em todos os grupos experimentais, apenas nas avaliações realizadas no 1º mês de seguimento.

Segundo FERRÉ & RUCKEBUSCH (1985) os efeitos das refeições sobre a motilidade colônica podem ser divididos em duas fases: na primeira, que ocorre imediatamente após refeição, há uma hiperatividade das contrações do cólon, que dura entre 40-60 minutos, sendo seguida por uma fase longa de aumento cíclico da motilidade intestinal, que persiste por 4-6 horas. Nosso trabalho avaliou exatamente essa primeira fase, considerada hiperativa, no intuito de verificar os fenômenos elétricos e mecânicos imediatamente após a refeição, já que há poucos estudos desse tipo em ratos.

Por outro lado, analisando a amplitude das contrações cecais dos animais deste estudo observamos uma razão alimentado/jejum (A/J) muito menor para ratos diabéticos do que a observada nos grupos normal e desnutrido, já a partir do 1º mês de seguimento, sobretudo, nos registros eletromecânicos obtidos no 6º mês, por



ambas as técnicas. Observou-se, também, que durante o 6<sup>o</sup> mês de estudo a amplitude das contrações registradas pela BAC e pela EMG, durante o jejum, foi maior do que aquela observada no período alimentado. Não há, porém, até o momento, estudos comparativos relacionando a amplitude de contração cecal entre os dois estados prandiais em animais normais e diabéticos crônicos. Todavia, (LIU et al. 1990) demonstraram alterações das contrações cecais em ratos diabéticos, tanto em relação à frequência quanto à amplitude de contração, bem como um desvio padrão elevado associado a esses resultados. Isso poderia significar que os reflexos gastro-cecais, geralmente observados após uma refeição, estariam comprometidos em animais diabéticos, o que prejudicaria a propulsão adequada do conteúdo digestivo, causando retenção de resíduos fecais no ceco por mais tempo.

Nossos dados corroboram estudos *in vitro* realizados em porções diversas do TGI de roedores, mostrando haver grande aumento no tamanho do ceco com a instalação do diabetes e, conseqüente, diminuição na frequência e amplitude de sua contração (KARAKIDA & HOMMA, 1989, LIU et al., 1990). Nesses estudos, a exemplo dos nossos achados, embora haja uma tendência de diminuição da frequência e amplitude da contração cecal, em ratos diabéticos, as diferenças não foram estatisticamente significantes quando comparadas com ratos normais.

Os mecanismos pelos quais ocorre o aumento do diâmetro do ceco em animais diabéticos, por sua vez, ainda são desconhecidos. Acredita-se, porém, que a complacência e a elasticidade do órgão estão diminuídas, o que aumentaria o limiar de pressão necessário para induzir o reflexo da atividade motora nestes animais, levando a uma maior retenção de conteúdos. Nesse sentido, parece que a transmissão da força de contração mecânica e os próprios elementos contrácteis podem estar alterados pelas desordens metabólicas do DM, lentificando ou acelerando também o trânsito (LIU et al., 1990). Novos estudos comparativos enfocando especificamente o ceco, no entanto, precisam ser desenvolvidos para esclarecer a questão.

Em outro contexto, a restrição de nutrientes afeta rapidamente a divisão de células e pode gerar uma limitação irreversível no crescimento do órgão e em suas funções (PAULA et al., 2005). Numerosos estudos indicam que deficiências proteicas produzem um metabolismo de glicose prejudicado, geralmente uma intolerância a glicose (YOUNG & DIXIT, 1980). O modo como a desnutrição afeta o

pâncreas é incerto (DIXIT & KAUNG, 1985) e há interesse em verificar parâmetros bioquímicos e a motilidade em animais desnutridos e diabéticos de modo comparativo. Em termos de frequências de contração gástrica e cecal os dois grupos se comportaram de modo semelhante neste estudo, no entanto, de modo significativo apenas no 6º mês de seguimento.

Alguns estudos analisaram o efeito do diabetes sob animais desnutridos tentando estabelecer os mecanismos pelos quais cada uma dessas anormalidades leva à intolerância a glicose (DIXIT & KAUNG, 1985). A intolerância a glicose em animais desnutridos pode estar associada à reduzida secreção de insulina pelo pâncreas, dentre outras razões, devido à quantidade reduzida de células beta produtoras de insulina do próprio pâncreas (DIXIT & KAUNG, 1985; PAULA et al., 2005).

Por fim, qualitativamente, o modelo experimental de motilidade do TGI proposto neste estudo, utilizando a BAC e a EMG, pode ser considerado excelente, haja vista ter possibilitado a obtenção de registros eletromecânicos durante longos períodos de seguimento, e caso fosse necessário, de maneira repetitiva. Também foi possível, entre outras coisas, avaliar os padrões motores durante o jejum, por meio de implantação de material magnético, e os padrões motores após a alimentação. Esses fatores podem ter grandes vantagens sobre outras técnicas, especialmente quando se considera as questões éticas tão necessárias e valorizadas atualmente. O modelo animal aqui proposto também pode ajudar a suprir algumas lacunas do conhecimento, haja vista a existência de algumas similaridades interessantes na motilidade do TGI do homem e dos animais (KANEKO et al., 2001, DESESSO & JACOBSON, 2001).

Também se mostra útil para reavaliar e atualizar estudos interessantes da motilidade do TGI, realizados na década de 80, antes do advento dos recursos de computação, hoje disponíveis, tanto para o registro dos sinais eletromecânicos, quanto para a análise dos traçados utilizando ferramentas digitais. Nesse sentido, ainda estamos implementando outras rotinas de análise em nossos dados, com o intuito de compreender melhor a relação eletromecânica apresentada pelo rato normal e pelo diabético, como também suas interações com estado prandial e com os efeitos deletérios determinados pelo DM, ao longo do tempo.

Convém também destacar que, apesar de o estômago e o ceco estarem se movimentando em uma mesma cavidade, portanto, sob forte influência um do outro, ainda há poucas análises detalhadas que incluam o estudo simultâneo destas duas vísceras. Esses aspectos tornam esse campo de pesquisa muito interessante e cheio de perspectivas, principalmente para a inserção de novas metodologias de registro e análise.

Abordagens tecnológicas inovadoras, como a BAC, também permitem o registro da atividade motora da parede gástrica e cecal de modo direto e contínuo, sem interferir no funcionamento normal do TGI. A BAC também é muito versátil, podendo ser utilizada para registrar as contrações gástricas, o esvaziamento gástrico e o tempo de transito orocecal em animais e no homem. Nossos resultados podem ser somados aos dados disponíveis sobre a motilidade gastrintestinal, ajudando a reduzir algumas discrepâncias encontradas, tanto nos estudos *in vitro* como *in vivo* (ALBERTÍ et al., 2005). Também poderão servir para compreender melhor os mecanismos implicados na atividade motora do trato digestório, em condições normais e patológicas, em busca de melhores perspectivas para a prevenção e tratamento das afecções que afetam a motilidade intestinal, especificamente do indivíduo diabético.



*Conclusões*

## 6. CONCLUSÕES

1. O modelo de estudo da motilidade do trato gastrointestinal (TGI) proposto neste trabalho, utilizando a biosusceptometria AC (BAC) e a eletromiografia (EMG) se revela suficientemente adequado para monitorar direta e continuamente as contrações da parede gástrica e cecal de ratos, sendo de fácil reprodutibilidade, aplicação e acurácia; em diferentes estados prandiais.

2. O uso simultâneo da BAC e da EMG se constitui em instrumento de alta eficácia para validação recíproca dos fenômenos elétricos e mecânicos que acontecem no estômago e no ceco de ratos, durante os períodos de jejum e pós-prandial, em virtude da alta coincidência temporal das ondas de contração captadas na parede gástrica e colônica, por ambos os recursos;

3. A atividade eletromecânica do estômago guarda nítida correlação com a atividade observada no ceco, pois os registros das contrações gástricas tanto interferem nas contrações cecais e vice-versa, como reciprocamente se modelam.

4. Ratos diabéticos induzidos pela aloxana apresentam alterações da motilidade gástrica e cecal, caracterizadas por ondas de contração de padrão morfológico irregular, com oscilação de frequências dominantes, com alto coeficiente de variação (CV) e elevada razão de amplitude, nos períodos de jejum e pós-prandial (A/J);

5. Ratos desnutridos, por restrição alimentar, não apresentam alterações da motilidade gástrica e cecal, através da BAC e EMG, quando comparados ao grupo controle.

6. Nas condições do presente experimento, a desnutrição associada ao diabetes descompensado não assume qualquer grau de responsabilidade pelas alterações da motilidade do TGI encontradas em animais diabéticos.



## *Referências Bibliográficas*

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diabetes Statistics – data from the 2007 National Diabetes Fact Sheet (the most recent year for which data is available). Disponível em: <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/diabetes-statistics/> Acesso em: 29 sep 2010.

AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; ROMEIRO, F.G.; BAFFA, O.; CORA L.A.; MIRANDA, J.R.A. *Scintigraphic validation of AC Biosusceptometry to study the gastric motor activity and the intragastric distribution*. **Neurogastroenterol. Motil.**, 2007, in press

AMÉRICO, M.F., OLIVEIRA, R. B. , CORÁ, L. A., MARQUES, R.G., ROMEIRO, F.G., ANDREIS, U., MIRANDA, J.R.A. The ACB technique: a biomagnetic tool for monitoring gastrointestinal contraction directly from smooth muscle in dogs. **Physiol. Meas.**, v. 31, p. 159–169, 2010.

AMÉRICO, M. F., MARQUES R. G., ZANDONA, E. A., ANDREIS, U., STELZER, M., CORA, L. A., OLIVEIRA, R. B., MIRANDA J. R. A. Validation of ACB in vitro and in vivo as a biomagnetic method for measuring stomach contraction. **Neurogastroenterol. Motil.**, v. 22, p. 1340-e347, 2010.

ANDERSEN, M.L.; D'ALMEIDA, V.; KO, G.M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P.J.F.; MAGALHÃES, L.E.; TUFIK, S. Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação. São Paulo. Cap IV e Cap VI, 2004.

AZPIROZ, F.; MALAGELADA, J.R. Intestinal control of gastric tone. **Am. J. Physiol.**, v. 249, p. G501-G507, 1985.

BAFFA, O.; OLIVEIRA, R.B.; MIRANDA, J.R.A.; TRONCON, L.E.A. Analysis and development of AC biosusceptometer for oro-caecal transit time measurements. **Med. & Biol. Eng. & Comput.**, v. 33, p. 353-357, 1995.

BELIKOV, V.G.; KUREGYAN, A.G. Generation and medicobiological application of magnetic fields and carriers (review). **Pharm. Chem. J.** v.35. p. 88-95. 2001.

BIELEFELDT, K., BASS, P. Sodium channel blockers alter slow-wave frequency of the rat stomach in vivo. **Digestion.**, v. 48, p. 43-50, 1991

BRASIL, Ministério da saúde. Cadernos de atenção básica. Diabetes Mellitus, Brasília-DF, 2006.

BRUNTON, L.; Fármacos que afetam a Motilidade e o fluxo de água Gastrintestinais; Êmese e Antieméticos; Ácidos Biliares e Enzimas Pancreáticas. In: GOODMAN-GILMAN, A; **As Bases Farmacológicas Da Terapêutica**. 9th ed. MEXICO. cap 38, p. 675-690, 1996.

BUENO, L., FERRÉ, J.P., RUCKEBUSCH, M. et al, Continuous electrical and mechanical activity recording in the gut of the conscious rat. **J. Pharm. Methods.** v. 6, p. 129-136, 1981.

CAMILLERI, M.; FORD, M.J. Review article: colonic sensorimotor physiology in health, and its alteration in constipation and diarrhoeal disorders. **Aliment. Pharmacol. Ther.** v. 12, p. 287-302, 1998.

CAMILLERI, M. Integrated upper gastrointestinal response to food intake. **Gastroenterology**, v. 131, p. 640-658, 2006.

CHANG F.Y.; LEE, S. D.; YEH G.H.; WANG, P.S. Influence of blood glucose levels on rats liquid gastric emptying. **Dig Dis Sci** 41:528-32, 1996.

CHANG, F.Y.; LU, C.C.; CHEN, C.Y.; LUO, J.C.; LEE, S.D.; WU, H.C.; CHEN, J.Z. Fasting and postprandial small intestinal slow waves non-invasively measured in subjects with total gastrectomy. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 22, p. 247-252, 2007.

CHRISTENSEN, J. Motility of the colon. In: **Physiology of the Gastrointestinal Tract**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven Press, cap. 21, p. 665-693, 1987.

CORÁ L.A., ROMEIRO F.G., STELZER M., AMÉRICO M.F., OLIVEIRA R.B., BAFFA O. AND MIRANDA J.R.A. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. **Adv. Drug Deliv. Rev.** v. 57, p.1223–1241, 2005.

CORÁ, L.A., AMÉRICO, M.F., OLIVEIRA, R.B., BAFFA, O., MORAES, R., ROMEIRO, F.G., MIRANDA, J.R.A. Disintegration of magnetic tablets in human stomach evaluated by alternate current Biosusceptometry. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** 56, 413-420, 2003.

CORÁ, L.A., ROMEIRO, F.G., PAIXÃO, F.C., AMÉRICO, M.F., OLIVEIRA, R.B., BAFFA, O., MIRANDA, J.R.A., A. Enteric coated magnetic HPMC capsules evaluated in the human gastrointestinal tract by AC Biosusceptometry. **Pharm. Res.** 23, 1809-1816, 2006a

CORÁ, L.A., ROMEIRO, F.G., AMÉRICO, M.F., OLIVEIRA, R.B., BAFFA, O., STELZER, M., MIRANDA, J.R.A., Gastrointestinal transit and disintegration of enteric coated magnetic tablets assessed by AC Biosusceptometry. **Eur. J. Pharm. Sci.** 27, 1-8, 2006b

COSTA, A.A., ALMEIDA NETO J.S. Manual de Diabetes: educação, alimentação, medicamentos e atividades físicas. 4ed. São Paulo: Sarvier, 204p., 2004.

CUCCHIARA, S., FRANZECE, A., SALVIA, G., Gastric emptying delay and gastric electrical derangement in IDDM. **Diabetes Care.** v. 21, p 438-443, 1998.

DAGHASTANLI, N.A.; BRAGA, F.J.H.N.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O. Oesophageal transit time evaluated by biomagnetic method. **Physiol. Meas.**, v. 19, p. 413-420, 1998.

DAGOGO-JACK S. Primary prevention of type-2 diabetes in developing countries. **J. Natl. Med. Assoc.**, v.98, p.415-419, 2006.

DAMASCENO, D.C., VOLPATO, G.T., CALDERON, I.M.P., RUDGE, M.V. Oxidative stress and diabetes in pregnant rats. **Anim. Reprod. Sci.** V. 72, p. 235-44, 2002.



- DAVIDSON, M.B. Diabetes mellitus: diagnóstico e tratamento. 4ed. Rio de Janeiro: Revinter, p.389, 2001.
- DE OLIVEIRA, J.E.P., MILECH, A. Diabetes mellitus: clínica diagnóstico, tratamento multidisciplinar. São Paulo: Atheneu, 362p. 2004.
- DESESSO, J.M., JACOBSON, C.F. Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. **Food and Chemical Toxicology**. v. 39, p. 209-228, 2001.
- DIXIT, P.K., KAUNG, H-L.C., Rat Pancreatic  $\beta$ -Cells in Protein Deficiency: A Study Involving Morphometric Analysis and Alloxan Effect. **J. Nutr.** v. 115, p. 375-381, 1985.
- DRESSMAN, J.B. Comparison of canine and human gastrointestinal physiology. **Pharm. Res.** v. 3 (3), p. 123-131, 1986.
- EL-SHARKAWY, T.Y. Electrical activities of the muscle layers of the canine colon. **J. Physiol.**, v. 342, p. 67-83, 1983.
- ELLIASSON, B., BJORNSSON, E., URBANAVICIUS, V. et al, Hyperinsulinaemia impairs gastrointestinal motility and slows carbohydrate absorption. **Diabetologia**. v. 38, p. 79-85, 1995.
- ENDO, K., MATSUMOTO, T., KOBAYASHI, T. Diabetes-related changes in contractile responses of stomach fundus to endothelin-1 in streptozotocin-induced diabetic rats. **J. Smooth Muscle Res.** v.41, p 35-47, 2005.
- FAGOT-CAMPAGNA, A.; BOURDEL-MARCHASSON, I.; SIMON, D. Burden of diabetes in an aging population: prevalence, incidence, mortality, characteristics and quality of care. **Diabetes Metab.**, v.31, p.535-552, 2005.
- FELDMAN, M., SCHILLER, L.R. Disorders of gastrointestinal motility associated with diabetes mellitus. **Ann. Int. Med.** v. 98, p. 378-384, 1983.
- FERRÉ, J.P., RUCKEBUSCH, Y. Myoelectrical activity and propulsion in the large intestine of fed and fasted rats. **J. Physiol.** v. 362, p. 96-106, 1985.
- FRASER, R.J.; HOROWITZ, M.; MADDOX, A.F.; HARDING, P.F.; CHATTERTON, B.F., DENT, J. Hyperglycaemia slows gastric emptying in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. **Diabetologia**. v.33, p. 675-80, 1990.
- FRASER, R.J.; HOROWITZ, M.; DENT, J. Hyperglycaemia stimulates pyloric motility in normal subjects. **Gut**. v. 32, p. 475-8, 1991.
- FREXINOS, F.; DELVAUX, M. Colonic Motility. In: KUMAR, D.; WINGATE, D. An illustrated guide to gastrointestinal motility. 2nd ed. London: Churchill Livingstone, Cap. 28, p. 427-448, 1993.
- FUJINO, K., INUI, A., ASAKAWA, A. et al, Ghrelin induces fasted motor activity of the gastrointestinal tract in conscious fed rats. **J. Physiol.** v.550, p. 227–240, 2003.

GUIGNET, R.; BERGONZELLI, G.; SCHLAGETER, V.; TURINI, M.; KUCERA, P. Magnet tracking: a new tool for in vivo studies of the rat gastrointestinal motility. **Neurogastroenterol. Motil.** v. 18, p. 472-8, 2006.

GLASGOW, I., MATTAR, K., KRANTIS A. Rat gastroduodenal motility in vivo: involvement of NO and ATP in spontaneous motor activity. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.** v. 275, p. 889-896, 1998.

GONZALEZ A., SARNA, S.K. Different types of contractions in rat colon and their modulations by oxidative stress. **Am J. Physiol.** v.280, p. 546-554, 2001.

HASLER, W.L., SOUDAH, H.C., DULAI, G., OWYANG, C. Mediation of hyperglycemia-evoked gastric slow-wave dysrhythmias by endogenous prostaglandins. **Gastroenterology.** v. 108, p. 727-736, 1995.

HORIGUCHI, SEMPLE, G.S.A., SANDERS, K.M., WARD, S. M. Distribution of pacemaker function through the tunica muscularis of the canine gastric antrum. **Journal of Physiology,** v. 537.1, p.237–250, 2001.

HOROWITZ, M. et al, Effects of diabetes mellitus on gastrointestinal motor function. **Neurosci. Res. Commun.** v. 21 [1], p. 75-82, 1997.

HOROWITZ M, HARDING PE, MADDOX AF, WISHART JM. Gastric and esophageal emptying in patients with type II diabetes mellitus. **Diabetologia;** 32: 151-9, 1989

HUIZINGA, J.D., DANIEL, E.E. Control of human colonic motor function. **Dig. Dis. Sci.,** v. 31, p. 865-877, 1986.

HUIZINGA, J.D.; STERN, H.S.; CHOW, E.; DIAMANT, N.E.; EL-SHARKAWY, T.Y. Electrophysiologic control of motility in the human colon. **Gastroenterology,** v. 88, p. 500-511, 1985.

ISHIGUCHI, T.; TADA, H.; NAKAGAWA, K.; YAMAMURA, T. Hyperglycaemia impairs antro-pyloric coordination and delays gastric emptying in conscious rats. **Auton. Neurosci-Basic Clin.** v.95, p.112-20, 2002.

IORIO, F., MALAGELADA, C., AZPIROZ, F. et al, Intestinal motor activity, endoluminal motion and transit. **Neurogastroenterol. Motil.** v. 21, p. 1264-e1119, 2009.

JAMES, A.N., RYAN, J.P. CROWELL, M.D., PARKMAN, H.P. Regional gastric contractility alterations in a diabetic gastroparesis mouse model: effects of cholinergic and serotonergic stimulation. **Am. J. Gastroenterol.** v. 287, p.612-619, 2004.

LERCO, M.M.; SPADELLA, C.T. et al, Caracterização de um modelo experimental de Diabetes Mellitus, induzido pela aloxana em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira.** v.18 (2). p. 132-42, 2003.

LI, M., MIYAGAWA, J. YAMAMOTO, K. IMAGAWA, A.,TOCHINO, Y., HANAFUSA, T., Beta cell neogenesis from ducts and phenotypic conversion of residual islet the

adult pancreas of glucose intolerant mice induced by selective aloxan perfusion. **Endocr J.**, p. 49(5):561-72, 2002.

LIU, H.S., KARAKIDA, T., HOMMA, S. In vitro motor activity and compliance of the caecum in streptozotocin diabetic rats. **Jpn. J. Physiol.**, v. 40, p. 843-851, 1990.

LONG, Q-L. et al, Gastro-electric dysrhythm and lack of gastric interstitial cells of cajal. **World J Gastroenterol.** v.10(8), p. 1227-1230, 2004.

LUNN, P.G., AUSTIN, D.S. Dietary Manipulation of Plasma Albumin Concentration. **J. Nutr.** v. 113, p. 1791-1802, 1983.

KANEKO, H., TOMOMASA, T., WATANABE, T. et al, Effect of vincristine on gastric motility in conscious rats. **Dig. Dis. Sci.** v. 16, p. 952-959, 2001.

KARAKIDA, T, HOMMA, S. Compliance changes of gastrointestinal tract in streptozotocin diabetic rats. **Jpn. J. Physiol.**, v.39, p.559-570, 1989.

KASSANDER P. Asymptomatic gastric retention in diabetics (gastroparesis diabeticorum). **Ann Intern Med.** Apr;48(4):797-812. 1958

KIHARA, N., FUJIMURA, M., YAMAMOTO, I. Effects of central and peripheral urocortin on fed and fasted gastroduodenal motor activity in conscious rats. **Am. J. Physiol.**, v. 280, p. 406-419, 2001.

KOSH, K.L., STERN, R.M., STEWART, W.R. et al, Gastric emptying and gastric myoelectrical activity in patients with diabetic gastroparesis: effect of long-term domperidone treatment. **Am. J. Gastroenterol.** v. 84, p. 1069-1073, 1989.

MALERBI, D.A.; FRANCO, L.J. The Brazilian Cooperative Group on the Study of Diabetes Prevalence. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 yr. **Diabetes Care**, v.15, p.1509-1516, 1992.

MARTINEZ-DE-JUAN, J.L., SAIZ, J. et al, Small bowel motility: relationship between smooth muscle contraction and electroenterogram signal. **Med. Eng. Phys.** v. 22, p. 189-199, 2000.

MEILE, T.; GLATZLE, J.; HABERMANN, F.M.; KREIS, M.E.; ZITTEL, T.T.; Nitric oxide synthase inhibition results in immediate postoperative recovery of gastric, small intestinal and colonic motility in awake rats. **Int J. Colorectal Dis.** p 21(2):121-9, 2006

MIQUELIN, C.A.; BRAGA, J.H.; DANTAS, R.O.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O. Pharyngeal clearance and pharyngeal transit time determined by a biomagnetic method in normal humans. **Dysphagia**, v. 16, n. 4, p. 308-312, 2001.

MIRANDA, J.R.A.; BAFFA, O.; OLIVEIRA, R.B.; MATSUDA, N.M. An AC biosusceptometer to study gastric emptying. **Med. Phys.**, v. 19, n. 2, p. 445-448, 1992.

MIRANDA, J.R.A.; OLIVEIRA, R.B.; SOUZA, P.L.; BRAGA, F.J.H.; BAFFA, O. A novel biomagnetic method to study gastric antral contractions. **Phys. Med. & Biological**, v. 42, p. 1791-1799, 1997.

MORAES, R.; CORÁ, L.A.; AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O.; MIRANDA, J.R.M. Measurement of gastric contraction activity in dogs by means of AC Biosusceptometry. **Physiol. Meas.**, v. 24, n. 2, p. 337-345, 2003.

MÖLLSTEN, Cumulative risk, age at onset, and sex-specific differences for developing end-stage renal disease in young patients with type 1 diabetes: a nationwide population - based cohort study. **Diabetes**, 59 (7): 1803-8, 2010.

MUGHAL, M.M.; MEGUID M.M. The effect of nutritional status on morbidity after elective surgery for benign gastrointestinal disease. **J. Parenter. Enteral. Nutr.**, v. 11, p. 140-143, 1987.

MULLEN, J.L. Conseqüências da má nutrição nos pacientes cirúrgicos. **Surg. Clin. North. Am.** (Trad. Ed. Interamericana), v. 61, p. 471-494, 1981.

NARAYANAN, M.L. et al. Diabetes prevalence, incidence, complications and mortality among Alaska Native people 1985-2006. **Int. J. Circumpolar Health**, v.69, p.236-52, 2010.

OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O.; TRONCON, L.E.A.; MIRANDA, J.R.A.; CAMBREA, C.R. Evaluation of a Biomagnetic Technique for Measurement of Orocaecal Transit Time. **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 8 (5), p. 491-495, 1996.

OWYANG, C, HASLER, W. Physiology and pathophysiology of interstitial cells of Cajal: from bench to bedside VI. Pathogenesis and therapeutic approaches to human gastric dysrhythmias. **Am. J. Physiol.**, v. 283, p. 8-15, 2002.

PARKMAN, H.P; HASLER, W.L.; BARNETT, J.L.; EAKER, E.Y. Eletrogastrography: a document prepared by the gastric section of the American Motility Society Clinical GI Motility Testing Task Force. **Neurogastroenterol. Motil.** v. 15, p.89-102, 2003.

PAULA, A.C.B., GRACIOSO, J.S., TOMA, W. , Is gastric ulceration different in normal and malnourished rats? **British J. Nutrition.** v. 93, p. 47-52, 2005.

PLUJÁ, L.; ALBERI, E.; FERNÁNDEZ, E.; MIKKELSEN, H.B.; THUNEBERG, L.; JIMÉNEZ, M.; Evidence supporting presence of two pacemakers in rat colon. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.** 281(1):G255-66, 2001.

QIAN, L.W.; PASRICHA, P.J.; CHEN, J.D.Z. Origins and patterns os spontaneous and drug-induced canine gastric myoelectrical dysrhythmia. **Dig. Dis. Sci.** v. 48 (3), p. 508-515, 2003.

RAO, S.S.C.; SCHULZE-DELRIEU, K. The stomach, pylorus and duodenum. In: KUMAR, D.; WINGATE, D. (Eds.). An illustrated guide to gastrointestinal motility. London: Churchill Livingstone, p. 373–392. 1993.

REDDY, S.N., COLLINS, S.M., DANIEL, E.E. Frequency analysis of gut EMG. **Crit. Rev. Biomed. Eng.**, v.15, p. 95-116, 1987.

ROMEIRO, F.G. CORÁ L.A., ANDREIS U. , A novel biomagnetic approach to study caecocolonic motility in humans. **Neurogastroenterol. Motil.** v. 18, p. 1078-83, 2006.

SAMSOM, M., AKKERMANS, L.M.A., JEBBINK, R.J.A. et al, Gastrointestinal motor mechanisms in hyperglycaemia induced delayed gastric emptying in type I diabetes mellitus. **Gut.** v. 40, p. 641-646, 1997.

SAMSOM, M., BHARUCHA, A., GERICH, J.E., HERRMANN, K. et al, Diabetes mellitus and gastric emptying: questions and issues in clinical practice. **Diabetes Metab. Res. Review.** v. 25, p. 502-14, 2009.

SANDERS, K.M.; KOH, S.D.; WARD S.M. Interstitial cells of Cajal as pacemakers in the gastrointestinal tract. **Annu. Rev. Physiol.** v. 68, p. 307-343, 2006.

SARNA, S.K. Cyclic motor activity; migrating motor complex: 1985. **Gastroenterology**, v. 89, p. 894-913, 1985.

SARNA, S.K. Myoelectric correlates of colonic motor complexes and contractile activity. **Am. J. Physiol.- Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 250, p. G213-G220, 1986.

SARNA, S.K.; LANG, I.M. Colonic motor response to a meal in dogs. **Am. J. Physiol.- Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 257, p. G830-G835, 1989.

SARNA, S.K. Physiology and pathophysiology of colonic motor activity (Part one of two). **Dig. Dis. Sci.**, v. 36, p. 827-862, 1991a.

SARNA, S.K. Physiology and pathophysiology of colonic motor activity (Part two of two). **Dig. Dis. Sci.**, v. 36, p. 998-1018, 1991b.

SARNA, S.K.; SOERGEL, K.H.; KOCH, T.R.; STONE, J.E.; WOOD, C.M.; RYAN, R.P.; ARNDORFER, R.C.; CAVANAUGH, J.H.; NELLANS, H.N.; LEE, M.B. Gastrointestinal motor effects of erythromycin in humans. **Gastroenterology**, v. 101, p. 1488-1496, 1991.

SAYDAH, S.; LOCHNER, K. Socioeconomic status and risk of diabetesrelated mortality in the U.S. **Public Health Rep.**, v.125, p.377-88, 2010.

SCOTT, S.M., Manometric technique for the evaluation of colonic motor activity: current status. **Neurogastroenterol. Motil.** v. 15, p. 483-513,2003

SHEARIN, N. L.; BOWES, K. L.; KINGMA, Y. J. In vitro electrical activity in canine colon. **Gut**, v. 20, p. 780-786, 1978.

SHERWIN, R.S., TAMBORLANE, W.V., BORG, W. Carbohydrate, lipid and amino acid metabolism in the non-pregnant patient. In: Reece, E.A., Coustan, D.R. (Eds.), *Diabetes mellitus in pregnancy*. Churchill Livingstone, New York, pp. 35–58, 1995.

- SOUZA, M.S.S., SINZATO, Y.K., LIMA, P.H.O., CALDERON, I.M.P., RUDGE, M.V.C., DAMASCENO, D.C. Oxidative stress status and lipid profiles of diabetic pregnant rats exposed to cigarette smoke. **Reprod. Biomed. Online.** v. 20, p. 547–52, 2010.
- SPADELLA, C.T. et al, Comparative study among five different treatments on the clinical and laboratory changes of the alloxan-induced diabetic rats. **Acta Cirúrgica Brasileira** . v. 20, p.46-54, 2005.
- SPADELLA, C.T. et al, Pancreas transplantation prevents cellular oxidative stress in kidneys of alloxan-induced diabetic rats. *Transplantation Proceedings*, v. 40, p. 524-528, 2008.
- STACHER, G. Diabetes mellitus and the stomach. **Diabetologia.** v.44, p. 1080-1093, 2001.
- SUNSHINE, A.G., PERRY, R., REYNOLDS, J.C., COHEN, S., OUYANG, A. Colonic slow-wave analysis. Limitations of usefulness of fast Fourier transform (FFT). **Dig. Dis. Sci.**, v. 34, p. 1173-1179, 1989.
- VAN DIEREN, S. et al. The global burden of diabetes and its complications: an emerging pandemic. **Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.**, 7 Suppl, p.53-58, 2010.
- VARAS-LORENZO, C. et al, Prevalence of glucose metabolism abnormalities and cardiovascular co-morbidity in the US elderly adult population. **Pharmacoepidemiol. Drug. Saf.**, v.15, p.317-326, 2006.
- YOU CH, CHEY WY. Study of electromechanical activity of the stomach in humans and in dogs with particular attention to tachygastria. **Gastroenterology.** 86:1460-8, 1984.
- YOUNG, J.K., DIXIT, P.K. Lack of diabetogenic effect of alloxan in protein-calorie malnourished rats. **J. Nutr.** v. 110, p. 703-709, 1980.
- XING, J., QUIAN, L., CHEN, J. Experimental gastric dysrhythmias and its correlation with in vivo gastric muscle contractions. **World J. Gastroenterol.** v. 12, p. 3994-3998, 2006.
- ZHANG, X., et al, Prevalence of diabetic retinopathy in the United States, 2005 – 2008. **JAMA**, 304(6): 649 – 56, 2010.
- WILD, S.; GOJKA, R.; GREEN, A. Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care**, v.27, p.1047-1053, 2004.