

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE CONTRAÇÃO E ESVAZIAMENTO  
GÁSTRICO EM RATOS GASTRECTOMIZADOS POR  
BIOSUSCEPTOMETRIA AC

MARCOS FELIPE DE FREITAS CALABRESI

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,  
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita  
Filho", Campus de Botucatu, para obtenção do título  
de Mestre em Biologia Geral e Aplicada, área de  
concentração *Biologia Celular Estrutural e  
Funcional*.

*Orientador: Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda*

**BOTUCATU – SP  
2013**



**unesp**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“Júlio de Mesquita Filho”  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE CONTRAÇÃO E ESVAZIAMENTO  
GÁSTRICO EM RATOS GASTRECTOMIZADOS POR  
BIOSUSCEPTOMETRIA AC

MARCOS FELIPE DE FREITAS CALABRESI

**ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ RICARDO DE ARRUDA MIRANDA**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita  
Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título  
de Mestre em Biologia Geral e Aplicada, área de  
concentração *Biologia Celular Estrutural e  
Funcional*.

*Orientador: Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda*

**BOTUCATU – SP**

**2013**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Calabresi, Marcos Felipe de Freitas.

Avaliação da atividade de contração e esvaziamento gástrico em ratos gastrectomizados por biosusceptometria AC / Marcos Felipe de Freitas Calabresi. – Botucatu : [s.n.], 2013

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José Ricardo de Arruda Miranda

Capes: 20903006

1. Gastrectomia. 2. Estômago – Cirurgia. 4. Estômago – Tomografia.  
5. Cirurgia bariátrica. 6. Biosusceptometria de Corrente Alternada.

Palavras-chave: Atividade de contração gástrica; Biosusceptometria ac; Esvaziamento gástrico; Gastrectomia.

À Ana de Lourdes e Roque,  
sempre estaremos juntos

# Agradecimentos

À minha mãe, **Deucélia**, que sempre apoiou minhas escolhas, me mostrou o mundo e ensinou a vivê-lo. Por todo carinho, dedicação, incentivo, paciência, confiança e amor.

Aos meus irmãos, **Henrique** e **Flávia**, meus eternos exemplos de vida, idoneidade, cumplicidade e amizade.

À **Emília**, minha inspiração de todos os dias, mesmo à distância, sua força, paciência, cumplicidade e amor foram fundamentais para que tudo se tornasse real.

Aos meus amigos-irmãos, novos e velhos, distantes ou não vocês sempre serão parte dos alicerces de tudo o que foi e será construído.

À república BGD e todos seus membros, pela irmandade, discussões, filosofias, churrascos e pelo som de todas as tardes.

Aos grandes amigos, **Caio, Allan, Alexandre** e **Matheus**, que muito contribuíram para que este trabalho fosse desenvolvido e concluído, seja nos algoritmos, discussões, edições, revisões e todo tipo de ajuda.

Aos meus companheiros de laboratório, **Meire, Gustavo, Juliana, Ronaldo, Dany Bruno, Luiz Gustavo, André, Deivid, Guilherme, Ana, Fernando, Paulo, Fabiano, Uilian, Priscileila** e **Diana**, pelo ótimo ambiente de trabalho, convivência, conselhos e cafés.

Ao prof. José Ricardo, pela orientação, dedicação, paciência, confiança e amizade.

À agência CAPES, pelo financiamento deste projeto.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, ao Instituto de Biociências de Botucatu, ao Departamento de Física e Biofísica e aos professores, pela infraestrutura e pela formação, sem as quais este trabalho não teria sido escrito.

## Resumo

CALABRESI, M.F.F. **Avaliação da atividade de contração e esvaziamento gástrico em ratos gastrectomizados por biosusceptometria AC.** 2013. 45f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

A obesidade é um grave problema de saúde a nível mundial, com preocupante aumento de sua incidência neste século. Nas últimas décadas a opção cirúrgica tem sido capaz de proporcionar emagrecimento duradouro e resolução ou melhora das comorbidades. Classificada como cirurgia bariátrica, a gastrectomia é uma técnica cirúrgica que promove a ressecção parcial ou total do estômago, aplicada também para o tratamento de outras doenças como a úlcera e o câncer de estômago. Neste trabalho a técnica utilizada foi a fundectomia, na qual é retirado o fundo do estômago, diretamente responsável pela acomodação gástrica e pela tonicidade do órgão. Porém, as mudanças anatômicas e fisiológicas geram mudanças em diversos parâmetros do trato gastrintestinal (TGI) como um todo. Nesse âmbito, a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC), técnica biomagnética já validada para medidas de diversos parâmetros do TGI, se apresentou como interessante ferramenta para estudar essas mudanças. As grandes vantagens da técnica são a versatilidade, a portabilidade, um relativo baixo custo de implementação, a não invasividade e a ausência de radiação ionizante. Este trabalho avaliou a atividade de contração e esvaziamento gástrico em ratos submetidos à cirurgia de fundectomia através da BAC. A atividade de contração gástrica demonstrou alterações significantes na contração fásica antes e depois da cirurgia, na frequência (70 – 50 mHz) e na amplitude (3,6 – 7,2 V.s). O esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal foram acelerados, e tiveram seus tempos médios diminuídos: MGET, 113 – 99 minutos; MCAT, 265 – 223 minutos; e SITT, 152 – 122 minutos. Foram analisadas as influências e consequências desse procedimento na motilidade gástrica e, a partir dessas conclusões, investigadas características e particularidades específicas de cada região do órgão.

**Palavras-chave:** Biomagnetismo, Biosusceptometria AC, Gastrectomia, Esvaziamento gástrico, Atividade de contração gástrica.

## Abstract

CALABRESI, M.F.F. **Evaluation of gastric contraction activity and emptying in gastrectomized rats by biosusceptometry AC.** 2013. 45f. Thesis (Master) – Institute of Biosciences of Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

Obesity is a severe health problem worldwide, with an alarming increase in incidence in this century. In recent decades the surgical procedure has been able to provide lasting weight loss and resolution or improvement of comorbidities. Classified as bariatric surgery, gastrectomy is a surgical technique that promotes partial or total stomach resection, also applied for treatment of other diseases such as ulcers and stomach cancer. In this work the technique used was fundectomy, which removes the stomach fundus, directly responsible for gastric accommodation and organ tone. However, the anatomical and physiological changes generate alterations in various parameters of the gastrointestinal tract (GIT) as a whole. In this context, the Alternating Current Biosusceptometry (ACB), biomagnetic technique already validated for GIT parameters measurements, performed as interesting tool to study these changes. The main advantages of this technique are the versatility, portability, relative low cost of implementation, non-invasiveness and ionizing radiation lack. This work evaluated the gastric contraction activity and emptying in rats submitted to surgery fundectomy through BAC. The gastric contraction activity showed significant changes in phasic contraction before and after surgery, in frequency (70 to 50 mHz) and amplitude (3.6 to 7.2 V.s). Gastric emptying and gastrointestinal transit were accelerated, and had reduced their average times: MGET, 113 - 99 minutes; MCAT, 265-223 minutes, and SITT, 152 - 122 minutes. Were analyzed the influences and consequences of this procedure on gastric motility and, from these findings, investigated specific characteristics and particularities of each region of the body.

**Key-words:** Biomagnetism, AC biosusceptometry, Gastrectomy, Gastric emptying, Gastric contraction activity.

## Lista de figuras

<b>Figura 1</b> - Partes anatômicas do estômago. ....	10
<b>Figura 2</b> - Configuração de um sistema BAC. ....	19
<b>Figura 3</b> - Sensor do sistema BAC. ....	20
<b>Figura 4</b> - Equipamento composto por amplificador de potencia, amplificador Lock-in, gradiômetro, hardware de aquisição (Biopac) e computador pessoal. ....	24
<b>Figura 5</b> - Posicionamento do sensor na aquisição da ACG. ....	25
<b>Figura 6</b> - Processamento e análise de dados de contração: A) Sinal filtrado; B) Espectro de Fourier; e C) Área sobre curva retirada do sinal filtrado. ....	26
<b>Figura 7</b> - Regiões de interesse para o teste de esvaziamento gástrico e trânsito: A, projeção do estômago; e B, projeção do ceco. ....	27
<b>Figura 8</b> - Posicionamento de sensor no teste de esvaziamento. ....	28
<b>Figura 9</b> - Exemplo de curva de esvaziamento gástrico (1) e chegada ao ceco (2). ....	29
<b>Figura 10</b> - Exemplos de sinais com morfologia distinta: A) Padrão de atividade tônica; B) Fortes alterações na amplitude; e C) Alterações em período e amplitude. ....	31
<b>Figura 11</b> - Sinais adquiridos e espectros de frequência para: A) Controle com contração tônica; B) Controle sem contração tônica, C) Gastretomizado caracterizando bradigastría, D) Gastrectomizado com frequência bem definida; E) 2 meses após a cirurgia, caracterizando ....	32
<b>Figura 12</b> - Quantificação das contrações tônicas e fásicas em termos de frequência (A) e amplitude (B) antes e depois da gastrectomia. ....	34
<b>Figura 13</b> - Curvas de intensidade do sinal magnético pelo tempo nos momentos de controle e gastrectomizado, para os pontos: (P1), projeção do estômago; e (P2) projeção do ceco. ....	36
<b>Figura 14</b> - Valores de MGET para todas as amostras. ....	37
<b>Figura 15</b> - Valores de MCAT para todas as amostras. ....	38
<b>Figura 16</b> - Valores de SITT para todas as amostras. ....	38
<b>Figura 17</b> - Médias e desvio padrão para MGET, MCAT e MSITT. ....	39
<b>Figura 18</b> - Valores de MGET e MCAT, após 2 meses da gastrectomia (n=5). ....	40



# Sumário

Agradecimentos	
Resumo	
Abstract	
Lista de figuras	
Sumário	
Introdução.....	9
Atividade de contração Gástrica (ACG).....	11
Esvaziamento Gástrico (EG) .....	12
Motilidade prandial.....	13
Motilidade em estado de jejum.....	14
Mecanismos de controle .....	14
Métodos de análise de parâmetros gastrintestinais .....	15
Objetivos.....	18
Material e Método .....	19
Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) .....	19
Modelo Físico para a BAC .....	21
Metodologia dos testes.....	23
Atividade de Contração Gástrica.....	25
Teste de Esvaziamento Gástrico .....	27
Resultados e Discussão.....	30
Atividade de Contração Gástrica (ACG) .....	30
Pré-análise qualitativa .....	30
Análise quantitativa.....	31
Frequências x Amplitudes.....	33
Esvaziamento Gástrico (EG) .....	35
Curva de intensidade .....	35
Momentos Estatísticos.....	36
Conclusão .....	41
Referências .....	43

## Introdução

O excesso de peso causa vários problemas de saúde para o ser humano, sendo atualmente um grave problema de saúde a nível mundial, diminuindo a qualidade e o tempo de vida das pessoas, com grandes custos para os sistemas de saúde [1]. A obesidade é considerada fator de risco para o desenvolvimento de hipertensões, doenças cardiovasculares, hiperglicêmicas, cujo tratamento é focado na redução significativa da taxa de sobrepeso [2].

De acordo com a OMS (Organização Mundial da Saúde), o Brasil é o segundo no mundo em obesidade. Além disso, o país também já é o segundo em número de cirurgias para controle da doença, de acordo com a SBCBM (Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica). O crescimento da cirurgia no Brasil é citado na Tabela 1.

**Tabela 1:** Evolução do número de cirurgias bariátricas realizadas no Brasil

<b>Ano</b>	<b>Cirurgias</b>
<b>2003</b>	16.000
<b>2004</b>	18.000
<b>2005</b>	22.000
<b>2006</b>	29.500
<b>2007</b>	33.000
<b>2008</b>	38.000
<b>2009</b>	45.000
<b>2010</b>	60.000

**Fonte:** Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica – **SBCBM** [3]

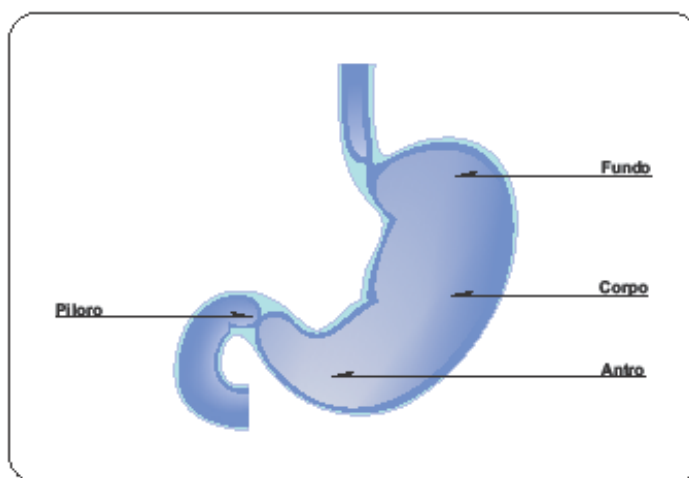
O tratamento cirúrgico tem se mostrado o único capaz de proporcionar adequada e duradoura perda de peso em pacientes com obesidade grave, com impacto positivo na saúde [4-5], e várias técnicas tem sido utilizadas, porem não isentas de consequências anatômicas e fisiológicas, sendo a técnica com menos efeitos indesejáveis ainda um objetivo dos cirurgiões bariátricos. [5]. Além da obesidade a cirurgia de redução de

estômago também é muito utilizada para o tratamento de doenças como úlcera e câncer de estômago.

As cirurgias de gastrectomia consistem na ressecção parcial ou total do estômago, que promovem uma diferenciação na anatomia do órgão, modificando os mecanismos hormonais, contráteis e de regulação funcional, os quais estão sob constante estudo. Os procedimentos podem ser de caráter restritivo à ingestão alimentar (banda gástrica, gastrectomia vertical, fundectomia), disabsortivos (*duodenal switch*), e mistos (*by-pass* gástrico e suas variáveis) [4].

O estômago é dividido em fundo, corpo, antro e piloro (Figura 1). É um órgão de grande importância no trato gastrintestinal e é responsável por complexas funções relacionadas diretamente com a digestão dos alimentos ingeridos. Para desempenhar tais funções ele possui movimentos mecânicos que dão origem a chamada motilidade gástrica.

A motilidade gástrica é dividida em duas propriedades relacionadas entre si, a atividade de contração gástrica (ACG) e o esvaziamento gástrico (EG). As contrações gástricas ocorrem quando as paredes musculares do estômago se contraem devido a estímulos provocados por despolarizações originadas nas células marca-passo, situadas principalmente na grande curvatura do órgão [6]. Através de uma série de contrações sincronizadas e direcionadas, o alimento (quimo) é aos poucos liberado pelo piloro em direção à primeira porção do intestino delgado, o duodeno, que por sua vez é responsável por grande parte da absorção dos nutrientes.



**Figura 1-** Partes anômicas do estômago.

## **Atividade de contração Gástrica (ACG)**

Considerando suas funções motoras, o estômago é tradicionalmente dividido em duas regiões funcionais distintas, a parte proximal (fundo gástrico) e a parte distal (antro) [7]. Em humanos, o estômago distal é capaz de gerar três vigorosas contrações fásicas por minuto (cpm), que reduzem o tamanho das partículas ingeridas, permitindo seu subsequente esvaziamento [8]. O estômago proximal apresenta propriedades eletromecânicas que o torna capaz de acomodar as refeições conforme são ingeridas [9]. Essa função de reservatório é decorrente da capacidade de relaxamento das fibras musculares lisas dessa região, que ocorre através de um reflexo vago-vagal com ativação de nervos não adrenérgicos não colinérgicos (NANC), e conta com um importante componente nitrérgico [10]. O processo de acomodação gástrica de grandes volumes de refeições implica na redução do tônus e no aumento da complacência do órgão, sem aumento da pressão intraluminal, nem indução de sensações desagradáveis ou vômito [11].

Além da função de reservatório é pertinente supor que a musculatura do estômago proximal produza dois tipos distintos de atividade motora: a sustentada, caracterizada por contrações tônicas que determinam a pressão intragástrica, e a rítmica representada por contrações fásicas [8, 12]. Embora a atividade tônica do estômago proximal seja mais estudada e conhecida [7], a existência da atividade fásica vem recebendo destaque nos últimos anos [13-14], desde que foi descrita por Azpiroz e Malagelada (1985). Essa atividade fásica caracteriza-se por variações rápidas e regulares da pressão intraluminal e foi originalmente denominada ondas de volume. A atividade motora fúndica apresenta frequência inferior à verificada no estômago distal [5, 15] e foi registrada em estudos empregando um balão barostático no estômago proximal de cães e do homem [12, 16].

Apesar de vários estudos mencionarem uma atividade de contração fásica proximal não relacionada com a atividade antral [8, 17], o significado fisiológico e a importância clínica dessa atividade ainda são incertos [14-15].

Tais contrações fásicas proximais, também chamadas de ondas de volume, parecem contribuir para a regulação da pressão intragástrica e otimização do esvaziamento gástrico, pois transferem conteúdos da região proximal para a distal facilitando a trituração e o esvaziamento gástrico residual [8]. Alguns estudos indicam que essa contratilidade fásica e o tônus são reduzidos e/ou abolidos pela distensão e/ou alimentação [18].

Nas cirurgias restritivas à ingestão alimentar, a capacidade do estômago de armazenar alimentos é reduzida. Especificamente na fundectomia, o estômago tem o fundo retirado e conseqüentemente ocorre uma diminuição no processo de acomodação do bolo alimentar, além da exclusão de células marca-passo deste segmento, que deverá resultar em diferenças em termos de atividade de contração do órgão como um todo e tempo de esvaziamento gástrico.

## **Esvaziamento Gástrico (EG)**

Durante os processos de digestão e absorção dos nutrientes, o estômago executa importantes processos, como a retenção do alimento e posterior esvaziamento em direção ao duodeno para ser absorvido. Neste processo, chamado esvaziamento gástrico, o quimo é expulso do estômago a diferentes taxas de esvaziamento, as quais variam de acordo com inúmeros parâmetros. O principal parâmetro utilizado pelos métodos clássicos para quantificar o EG é o tempo, seja o tempo até a metade do conteúdo gástrico ser esvaziado ( $T_{1/2}$ ), o tempo médio referente a momentos estatísticos ou o tempo de retenção.

O EG é um processo complexo e reflete uma variedade de funções as quais incluem a acomodação gástrica e relações coordenadas entre as contratilidades do estômago proximal/distal e antro/piloro/duodenal [19]. A maneira com que o estômago desempenha essa função gera perfis distintos, diretamente relacionados com inúmeros parâmetros da refeição em questão, como viscosidade, carga calórica e volume ingerido.

Diferentes condições fisiológicas e patológicas, drogas e cirurgias podem modificar o EG. Entre as condições fisiológicas, o envelhecimento, o ciclo menstrual e a gravidez também podem alterar a taxa de esvaziamento [20]. Alterações no perfil e no tempo do EG podem ser resultado de diversas doenças como dispepsia, gastroparesia, diabetes melittus, refluxo esofágico. Em pacientes com dispepsia funcional, o esvaziamento retardado é uma importante causa de sintomas como sensação de inchaço pós prandial e vômito.

Os padrões de esvaziamento gástrico são dependentes de diversas características dos materiais ingeridos, incluindo propriedades físicas e nutritivas, tais como sólidos, líquidos nutritivos e líquidos não nutritivos, que possuem diferentes taxas de esvaziamento. Uma propriedade fundamental do estômago é a habilidade em distinguir componentes sólidos e líquidos em uma refeição, onde o esvaziamento líquido ocorre com uma relativa

facilidade mecânica enquanto os sólidos dependem de um processo inicial de trituração das partículas no antro antes do processo de esvaziamento [21].

## **Motilidade prandial**

Com a ingestão do alimento, o fundo gástrico e a parte superior do corpo funcionam como reservatório para o conteúdo gástrico. O reflexo adaptativo de relaxamento, descrito por Cannon e Lieb em 1911 [22], ativa o estômago proximal para acomodar um aumento de volume com pequena mudança na pressão luminal. Em seguida uma contração tônica propulsiona os líquidos gástricos e redistribui os sólidos para o estômago distal. Ondas motoras originadas no corpo médio atravessam o órgão distalmente em direção ao antro e acabam com o fechamento do piloro, onde ocorre uma potente contração terminal, a qual mói o conteúdo sólido contra o piloro fechado repetitivamente, auxiliando assim a quebra dos sólidos e a mistura desses com o suco gástrico [23].

Imediatamente após a refeição, a motilidade do estômago e do intestino delgado aumentam, alcançando sua intensidade máxima em torno de 30 minutos, quando a estimulação pelos hormônios peptídicos gastrointestinais e neurônios é considerada mais proeminente. Essa motilidade em estado alimentado ocorre em todo o trato gastrintestinal, mais acentuadamente até o ângulo de Treitz (junção entre duodeno e jejuno), e prevalece por 4 horas após uma refeição regular de 600 kcal. Durante esse estado, apenas líquidos e semilíquidos, bem como partículas com tamanho de 1 a 2 mm, são esvaziadas do estômago para o duodeno [23].

O esvaziamento gástrico de sólidos apresenta um padrão bifásico e se dá em um ritmo muito mais lento quando comparado ao dos líquidos. Em geral, a taxa de esvaziamento de sólidos é caracterizada pela chamada *lag-phase*, durante a qual não ocorre esvaziamento considerável. A *lag-phase*, que pode durar de 20 a 60 minutos, é representada por uma retenção inicial do conteúdo sólido no estômago proximal seguida por uma redistribuição em direção ao antro, onde as partículas sólidas são trituradas antes de qualquer esvaziamento ocorrer. Se a viscosidade da refeição é muito alta, a habilidade do estômago em discriminar o tamanho das partículas é debilitada, e partículas muito grandes passam para o duodeno. Após a *lag-phase*, ocorre uma fase de esvaziamento com um padrão aproximadamente linear e uma taxa de esvaziamento quase constante, durando

de 2 a 3 horas pós prandiais. A quantidade de líquido consumida juntamente com o sólido pode afetar a taxa de esvaziamento sólido. Em uma refeição mista, com sólidos e líquidos, mais de 80% da fase líquida sofre esvaziamento antes da fase sólida, sugerindo que o estômago é capaz de discriminar sólidos e líquidos quando presentes simultaneamente. De forma mais clara, a presença de líquidos no estômago, principalmente líquidos contendo nutrientes, prolonga o esvaziamento dos sólidos [23].

## **Motilidade em estado de jejum**

Após o final do processo digestivo, um padrão cíclico de atividade motora, secreção e fluxo sanguíneo migram do estômago distal para o íleo. Esse padrão, chamado Complexo Motor Migratório (CMM), apresenta principalmente ondas de pressão periódicas que ocorrem em intervalos variáveis geralmente repetidos entre 80 – 120 minutos. O ciclo do CMM é dividido em três fases distintas: a fase 1 é caracterizada pela ausência de contrações; a fase 2, por contrações irregulares e randômicas; e a fase 3, por contrações fásicas contínuas que duram até 5 minutos. Teoricamente, grandes sólidos indigeríveis ficam retidos no estômago até que ocorra a fase 3 do CMM, quando seriam esvaziados para o duodeno, porém estudos recentes mostram que eles podem ser esvaziados antes disso, durante o período pós prandial. Durante o estado de jejum, o estômago permite o esvaziamento de partículas maiores do que 1 – 2 mm [21].

## **Mecanismos de controle**

O esvaziamento gástrico é um processo lento que possui um ritmo finamente regulado por alguns fatores como os níveis de açúcar no sangue, as sinalizações do sistema nervoso entérico e a atuação dos hormônios peptídicos gastrintestinais [23].

O sistema endócrino do trato gastrintestinal tem, evidentemente, um importante impacto no perfil de esvaziamento gástrico. Os principais hormônios peptídicos gastrintestinais são:

- Grelina – Originada principalmente na parte fúndica do estômago, esse hormônio está diretamente ligado à motilidade gastrintestinal e possui efeito de estimulação de apetite. Estudos em animais mostram o aumento do esvaziamento gástrico após

a administração de grelina [24]. Os níveis de grelina no plasma estão fortemente correlacionados com a alimentação, onde se observa um aumento antes da refeição, seguido por uma diminuição após a ingestão, a última provavelmente relacionada com o nível de glicose no sangue [23];

- **GLP-I** – Produzido na mucosa intestinal, o GLP-I tem importante efeito inibidor do esvaziamento gástrico, provocando o efeito de “íleo fechado”, via nervo vago. Ácidos gástricos e secreções pancreáticas são reduzidos pelo GLP-I, mediados por vias aferentes do nervo vago, indicando uma íntima relação entre os mecanismos de controle neural e hormonal em relação ao esvaziamento gástrico [23].
- **Motilina** – Provida da capacidade de estimular as contrações gástricas e o tônus do esfíncter pilórico, a motilina é secretada pelas células endócrinas da mucosa da parte superior do intestino delgado, quando o pH do conteúdo duodenal é superior a 4,5. A secreção de motilina é alta no início do período após a refeição, quando pouco quimo ácido chegou ao intestino delgado. Sua função é estimular a ação misturadora do estômago. A secreção de motilina também pode estimular a secreção de pepsina [23].

## **Métodos de análise de parâmetros gastrintestinais**

Investigações sobre a ACG e o EG denotam grande importância e requerem métodos precisos e bem definidos, nos quais a escolha da técnica é fundamental para a análise e interpretação dos resultados [23]. Cada método possui diferentes características de aplicação e análise, incluindo observações diretas da passagem do conteúdo gástrico através da fístula, métodos de intubação e aspiração, tomografia de impedância elétrica, sistemas telemétricos de medida de pH, ensaios com absorção de drogas, métodos laparoscópicos e testes respiratórios com isótopos estáveis. Entretanto, técnicas de imagem estão sendo mais amplamente aplicadas para analisar tais parâmetros principalmente pela capacidade de medida direta e não invasiva [25].

Na avaliação desses parâmetros gastrintestinais, bem como patologias associadas, diversas metodologias físicas são empregadas, sendo as mais comuns aquelas baseadas em registros elétricos e mecânicos [26]. As técnicas comumente utilizadas na prática clínica são empregadas principalmente para determinar o esvaziamento gástrico e o tempo de



trânsito gastrointestinal, como a cintilografia e as radiografias seriadas com marcadores radiopacos. Estas técnicas são semi-quantitativas, apresentam baixa resolução espacial e demandam elevadas doses de radiação ionizante [27]. Os métodos manométricos tradicionais, que empregam dispositivos como balões e cateteres de perfusão de água, são invasivos e podem interferir e influenciar nos eventos mecânicos [28-29].

Em estudos com pequenos animais, uma variedade de técnicas é usada para avaliar o esvaziamento gástrico. O principal método, considerado *gold standard* atualmente, é o vermelho de fenol. Descrito pela primeira vez por Scarpignato et al em 1980 [30], baseia-se na análise das concentrações de determinado marcador, no caso o vermelho de fenol, em diversas partes do trato. O vermelho de fenol é um cristal vermelho, levemente ácido, que é estável no ar. Também usado como indicador de pH, nesta técnica ele é utilizado como marcador não absorvível para o alimento teste na forma líquida. Essa técnica é baseada na medição de concentração do marcador a partir da absorbância da amostra, neste caso, de porções do trato gastrointestinal. No entanto, este método requer o sacrifício do animal e os dados de rendimento de esvaziamento gástrico referem-se a apenas um ponto de tempo, envolvendo assim um número relativamente grande de animais para construir um modelo temporal [28].

Uma interessante alternativa para estudar parâmetros do trato gastrointestinal são as técnicas biomagnéticas. O biomagnetismo engloba técnicas totalmente não invasivas e desprovidas de radiação ionizante para avaliar campos magnéticos provenientes do sistema biológico [31]. Algumas técnicas detectam o campo magnético associado à atividade elétrica [32], enquanto outras realizam medidas por meio da ingestão de materiais com propriedades ferromagnéticas [33], ou contaminantes, além de avaliar propriedades magnéticas de organismos. As instrumentações aplicadas em biomagnetismo envolvem detectores de campo magnético como SQUID (Superconducting Quantic Interference Device), magnetômetro de fluxo saturado (Fluxgate), detectores baseados no efeito Hall e biosusceptômetro de corrente alternada [34-35].

Neste âmbito, a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) demonstrou ser uma eficiente técnica biomagnética para acessar e analisar diferentes parâmetros relacionados ao estudo do TGI e suas funções motoras. Desenvolvida na década de 1990 por Baffa, Miranda e colaboradores para avaliar a fisiologia do trato gastrointestinal de humanos [33, 36], seus principais trabalhos são focados em estudos do trato gastrointestinal

(TGI), de suas funções motoras e de avaliação do encaminhamento (liberação) de formas de dosagem sólidas. Esta técnica apresentou grande precisão ao avaliar o esvaziamento gástrico [33, 37], a atividade de contração gástrica (ACG) em humanos [36] e cães [38], distribuições intragástrica de refeições de pequenos volumes [39] e, mais recentemente, diversas aplicações no processo de *Drug Delivery* [40, 41]. Em animais de pequeno porte, a BAC foi validada como uma técnica eficaz na determinação e avaliação da motilidade gastrointestinal [19, 42].

A técnica tem como principais características a não invasividade, a ausência de radiação ionizante, relativo baixo custo de implementação e a portabilidade. Além disso, o método permite experimentos *in vivo* com uma alta correlação com o método *gold standard* e mantendo as condições fisiológicas [39]. Em refeições marcadas, tanto sólidas como líquidas, podem ser usados protocolos onde são aplicadas drogas ou plantas medicinais sem o sacrifício desnecessário de animais.

Em linhas gerais, a proposta deste projeto é aplicar a BAC para estudar as influências e consequências da fundectomia no motilidade gástrica de ratos, a partir de análises do esvaziamento e da atividade de contração gástrica. Nesse contexto, a proposta visa também investigar a fisiologia do órgão, analisando a influência de determinadas regiões, a princípio do fundo, na origem e intensidade das frequências de contração e suas relações com as variações do tempo de trânsito.

## Objetivos

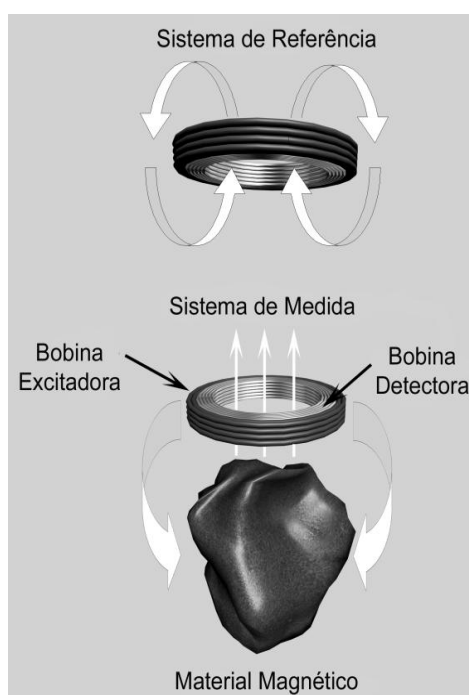
Este estudo, desenvolvido no Laboratório de Biomagnetismo do Departamento de Física e Biofísica do Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, avaliou as consequências e efeitos do procedimento de gastrectomia na motilidade gástrica de ratos, empregando-se BAC, com os seguintes objetivos específicos:

- Análise qualitativa e quantitativa da atividade de contração fásica e tônica a partir da aquisição de sinais biomagnéticos, através da avaliação das frequências e amplitudes das contrações gástricas em dois momentos: antes (controle) e depois da gastrectomia;
- Determinação do tempo médio de esvaziamento gástrico, chegada de alimento no ceco e trânsito no intestino delgado, através do monitoramento externo da variação de concentração do alimento marcado em determinadas regiões do trato, também nos dois momentos citados acima;
- Avaliação da influência do procedimento de gastrectomia em cada parâmetro analisado e seus reflexos na motilidade gastrintestinal como um todo.

## Material e Método

### Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC)

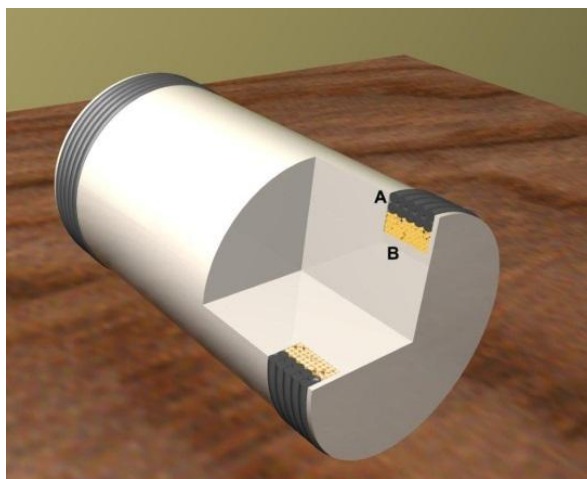
A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) é uma técnica biomagnética que consiste na aplicação de um campo magnético alternado em um meio biológico e na detecção dessa interação através do uso de traçadores/marcadores magnéticos no tecido. A instrumentação, ilustrada na Figura 2, é composta por dois pares de bobinas, um de medida e outro de referência, arranjados em configuração gradiométrica de primeira ordem.



**Figura 2** - Configuração de um sistema BAC.

O valor de campo medido pelo sistema de detecção é subtraído do valor registrado pelo sistema de referência, desta forma é possível diminuir a influência de ruído e também simplificar os cálculos para formulação do modelo físico do sistema como um todo. Outra vantagem do arranjo gradiométrico da instrumentação é a diminuição da tensão detectada, o que aumenta consideravelmente a relação sinal-ruído do sistema. A BAC diferencia e detecta estruturas através da variação da susceptibilidade magnética inerente a cada material.

A Figura 3 ilustra um sensor de um sistema BAC. Como pode ser observado, o sensor é constituído por dois pares idênticos de bobinas. Cada um desses pares consiste em uma bobina mais externa (A), a bobina de excitação, e uma mais interna (B), a de detecção.



**Figura 3** - Sensor do sistema BAC.

As bobinas de excitação são alimentadas com uma tensão alternada, gerada com frequência e amplitude precisamente controladas através de um amplificador Lock-in e em seguida, amplificadas em um amplificador de potência. O campo gerado deverá induzir um campo magnético idêntico nos sistemas de detecção e de referência. Graças à configuração gradiométrica, esses campos se cancelam, criando um equilíbrio no sistema gradiométrico, que será afetado apenas por fatores externos, como um marcador ou traçador magnético.

Ao posicionar o sensor próximo a um material com alta susceptibilidade magnética, como os traçadores magnéticos, é gerada uma corrente induzida na bobina detectora. Por sua vez, essa corrente é medida através do monitoramento da tensão do sistema de medida. Desta forma é adquirido um valor de tensão proporcional à susceptibilidade magnética, à posição e à quantidade de material magnético presente na região analisada.

A técnica BAC emprega como traçadores ou marcadores, materiais com alta susceptibilidade magnética, como o óxido de ferro com manganês (ferrita,  $\text{Fe}_2\text{MnO}_4$  - 50 – 100  $\mu\text{m}$ ), que proporciona alta resposta no sistema e não necessita de magnetização prévia do material. Considerada inerte no organismo, a ferrita possui vantagens em sua utilização como traçador magnético, como a sua não toxicidade e insolubilidade natural [19, 43-44].

Por princípio, as contrações mecânicas do estômago afastam o material do sensor posicionado na superfície abdominal, reduzindo a força eletromotriz registrada. Do mesmo modo, o relaxamento aproxima o marcador magnético dos sensores, o que, conseqüentemente, aumenta a força eletromotriz. Nas avaliações de trânsito, leva-se em consideração que a intensidade do sinal é proporcional a quantidade de material no interior do órgão. Assim, o esvaziamento gástrico, trânsito gastrointestinal e o trânsito oro-cecal podem ser medidos temporalmente em regiões pré-determinadas como a projeção do estômago e do ceco.

## Modelo Físico para a BAC

Para a susceptibilidade magnética, temos que

$$\chi = \frac{\vec{M}}{\vec{H}}, \quad (1)$$

em que  $\vec{M}$  representa a magnetização do elemento e  $\vec{H}$  a intensidade magnética [45].

Se o valor de  $\chi$  do elemento for muito menor do que 1 ( $\chi \ll 1$ ), pode ser aproximado para  $\chi - \mu_0 \frac{M}{B}$ , onde  $\vec{B}$  corresponde à indução magnética e  $\mu_0$  à permeabilidade magnética no vácuo[46].

É possível medir a susceptibilidade magnética de um corpo aplicando-se a ele um determinado campo magnético  $\vec{B}_a$ . Assim, o campo magnético em qualquer ponto do corpo será  $\vec{B}_a + \vec{B}_s$ , onde  $\vec{B}_s$  é o campo resultante da magnetização da amostra, que corresponde às contribuições do campo aplicado e do campo induzido. Desta forma, em relação a uma bobina de referência, que não está sob influência da magnetização da amostra, a variação do fluxo magnético ( $\Delta\Phi_d$ ) medida pela bobina de detecção do sistema será referente apenas a  $\vec{B}_s$ . Então teremos

$$\Delta\Phi_d = \int \vec{B}_s d\alpha. \quad (2)$$

Para levar em consideração o efeito de um campo magnético não uniforme em um determinado corpo, é interessante descrever o fator  $\vec{B}$  em função do potencial vetorial magnético. Desta forma

$$\vec{B} = \nabla \times \vec{A}, \quad (3)$$

$$\vec{A} = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{\vec{m} \times \vec{r}}{r^3}. \quad (4)$$

Assim, é possível reescrever a equação (2) na forma

$$\Delta\Phi_d = \frac{\mu_0}{4\pi} \int \nabla \times \frac{\vec{m} \times \vec{r}}{r^3} d\vec{a}. \quad (5)$$

Aplicando o Teorema de Stokes e rearranjando o produto vetorial, obtêm-se

$$\Delta\Phi_d = \frac{\mu_0}{4\pi} \int \frac{\vec{m} \times \vec{r}}{r^3} \cdot d\vec{l}, \quad (6)$$

$$\Delta\Phi_d = \frac{\mu_0}{4\pi} \vec{m} \cdot \int \frac{\vec{r} \times d\vec{l}}{r^3}, \quad (7)$$

onde  $d\vec{l}$  corresponde à linha elementar para integração em torno da bobina de detecção. Neste caso, também se considera que, pelo Teorema da Reciprocidade, a bobina detectora seja energizada por uma corrente  $I_R$ , fluindo na mesma direção de  $d\vec{l}$ . Então, pela lei de Biot-Savart, o campo magnético  $\vec{B}_R$  originado por  $I_R$  em qualquer ponto  $x$  da linha  $d\vec{l}$  será dado por

$$\vec{B}_R = \vec{I}_R \frac{\mu_0}{4\pi} \int \frac{d\vec{l} \times \vec{x}}{x^3}. \quad (8)$$

Considerando que  $\vec{x} = -\vec{r}$ , podemos reescrever a equação 7 na forma

$$\Delta\Phi_d = \vec{m} \cdot \frac{\vec{B}_R}{I_R}, \quad (9)$$

como o momento de dipolo magnético é dado por

$$\vec{m} = \vec{M} dV = \left( \chi \frac{\vec{B}_a}{\mu_0} \right) dV, \quad (10)$$

a contribuição para o fluxo magnético total desta porção infinitesimal de volume  $dV$  será dada pela expressão

$$\Delta\Phi_d = \frac{1}{\mu_0 I_R} \chi \vec{B}_a \cdot \vec{B}_R dV. \quad (11)$$

Como  $\vec{B}_a$  e  $\vec{B}_R$  são conhecidos em qualquer ponto, é possível reescrever a equação 11 de forma mais geral, isto é

$$\Phi = \frac{1}{\mu_0 I_R} \int_{vol} \chi(x) \vec{B}_a(x) \cdot \vec{B}_R(x) d^3x, \quad (12)$$

considerando  $x$  uma variável genérica para integração em qualquer coordenada[46].

A partir da equação (12), considerando que todos os parâmetros intrínsecos ao sistema como campo magnético e corrente aplicada, sejam constantes, a variação do fluxo magnético medida pelos sensores irá depender diretamente da variação da susceptibilidade magnética do corpo. Sendo assim, pode-se reescrever a equação 12 de forma geral.

$$\Delta\Phi = S \Delta\chi, \quad (13)$$

sendo o fator  $S$  relacionado com a instrumentação e com os aspectos intrínsecos ao sistema.

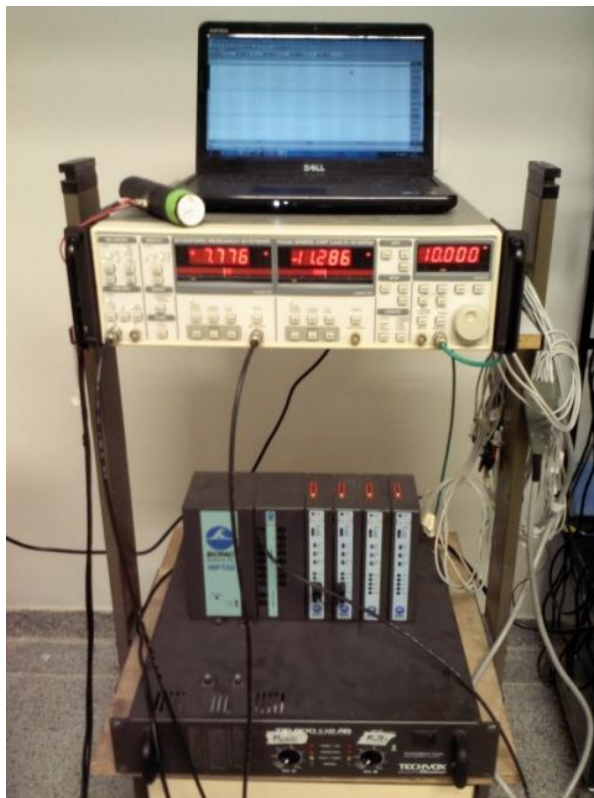
## Metodologia dos testes

O trabalho foi dividido em três etapas: a pré-operatória (controle), o procedimento cirúrgico (gastrectomia) e a pós-operatória. As etapas pré e pós-operatória foram desenvolvidas através de medidas de atividade de contração e esvaziamento gástrico em um grupo de 12 e 13 ratos machos Wistar, respectivamente. Os animais possuíam o peso de aproximadamente 300 gramas e antes de todas as medidas permaneciam em jejum durante 12 horas em gaiolas metabólicas com livre acesso à água. As medidas foram feitas para alimentos sólidos, onde o traçador magnético foi uma ração marcada com ferrita de manganês ( $\text{Fe}_2\text{MnO}_4$ ), em pó, a 20%. O sistema de aquisição utilizado contou com o sensor magnético (gradiômetro), amplificador lock-in, amplificador de potência, hardware de aquisição (Biopac MP150 System, Inc.) e um computador pessoal para armazenamento e processamento dos dados (Figura 4).

Basicamente, as bobinas de excitação trabalham com uma frequência de 10 kHz gerada pelo amplificador *Lock-in* e uma corrente elétrica de 88 mA, que produz um campo magnético de 20 G (rms), o qual induz fluxo magnético igual nas bobinas de detecção [19].

O gradiômetro utilizado neste trabalho foi construído e caracterizado com resolução espacial e sensibilidade para o uso específico em pequenos animais e suas especificações são: linha de base de 15 cm, bobinas excitadoras de 3,5 cm de diâmetro e 200 voltas de fio de cobre 26 – AWG (*American Wire Gauge*, padrão americano normalizado), bobinas detectoras de 2,9 cm de diâmetro e 500 voltas de fio de cobre 32 – AWG [47].





**Figura 4** - Equipamento composto por amplificador de potencia, amplificador Lock-in, gradiômetro, hardware de aquisição (Biopac) e computador pessoal.

Terminada a primeira etapa, foi realizada a gastrectomia parcial em cada um dos ratos. A cirurgia, especificamente denominada fundectomia, caracterizou-se pela ressecção da parte fúndica do estômago e foi realizada utilizando como anestésico a ketamina e xelazina a 30 mg/kg. O procedimento consistiu em uma laparoscopia, na qual o estômago foi exteriorizado, e após identificação da porção fúndica, esta foi cirurgicamente seccionada com auxílio de uma lâmina de bisturi. Após sutura, o animal permaneceu em recuperação durante um período de 7 dias mediante analgesia e cuidados pós-cirúrgicos.

Após o período de recuperação, foi realizada a etapa pós-operatória onde as medidas de atividade de contração, esvaziamento gástrico e trânsito do intestino delgado foram repetidas em cada animal. Os dados referentes às etapas foram reunidos e comparados entre si para avaliar o comportamento e a evolução das influências e consequências da cirurgia nesses determinados parâmetros.

Todos os experimentos com animais deste trabalho contaram com a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o protocolo nº 410-CEUA.

## Atividade de Contração Gástrica

Para as medidas de atividade de contração gástrica, os animais foram alimentados com 3 gramas de refeição teste. Em seguida, para obtenção dos registros, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico 3%, administrado por via intraperitoneal, na dose de 40 mg/kg de peso corporal, sendo acomodados em decúbito dorsal horizontal com o sensor magnético, gradiômetro, posicionado sobre a superfície abdominal (Figura 5). Todos os registros tiveram duração aproximada de 60 minutos e foram obtidos a uma frequência de 20 Hz, utilizando um registrador (Biopac MP150 System, Inc.) conectado a um computador. Os dados foram arquivados em formato ASCII para posterior análise em ambiente MatLab (MathWorks Inc.).



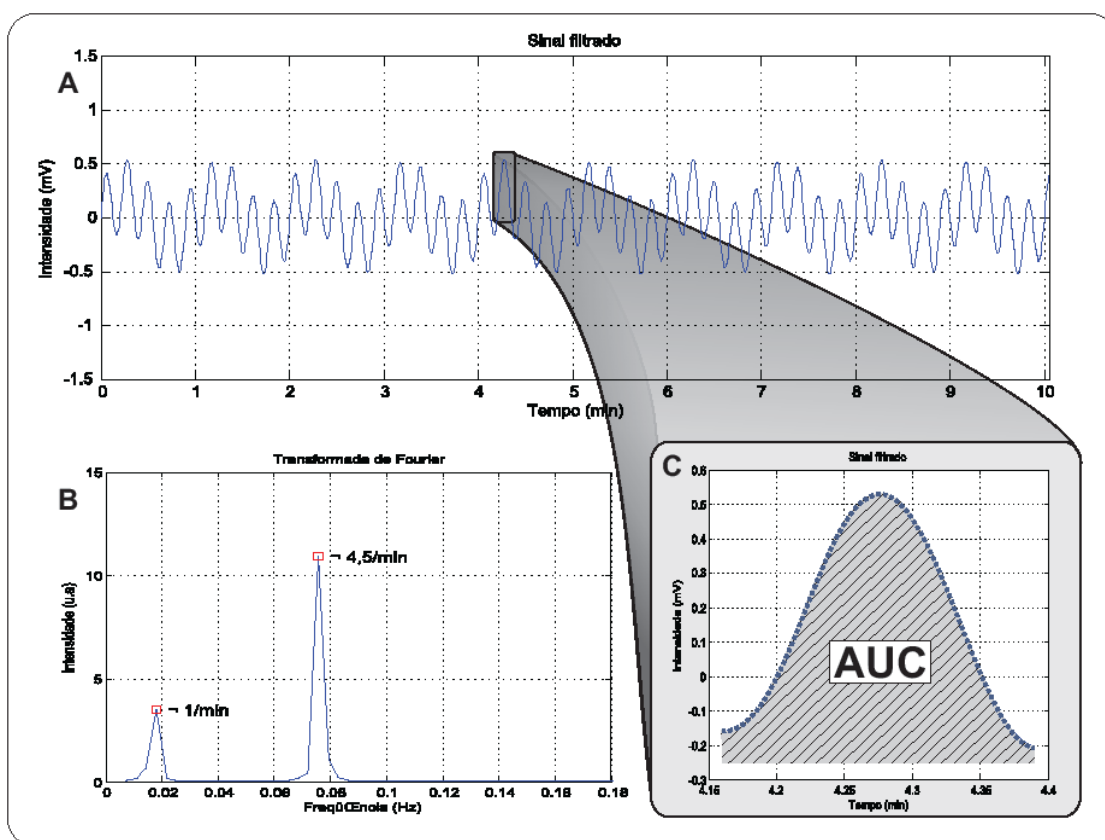
**Figura 5** - Posicionamento do sensor na aquisição da ACG.

A análise dos sinais contou com uma avaliação inicial, de caráter qualitativo, que consistiu na inspeção visual dos sinais originais sem qualquer tipo de filtragem. Interferências causadas por artefatos respiratórios, espasmos, ruídos ambientais ou oscilações na rede elétrica, podem atrapalhar a interpretação dos sinais gastrintestinais. Assim sendo, um filtro tipo *Butterworth*, de ordem 2, foi utilizado para selecionar, com pouca ou nenhuma atenuação, determinados componentes de frequência, sendo possível rejeitar ou remover os componentes indesejáveis de um sinal (Figura 6-A). Este filtro apresenta resposta em amplitude maximamente plana e bidirecional, de modo a não causar modificação na fase do sinal [33]. Para esse estudo foi utilizado um filtro do tipo “passa-banda”, o que permitiu a visualização de frequências dentro de uma faixa pré-estabelecida. De delineamento simples, o ajuste dos filtros digitais e sua associação são muito importantes, sendo determinados, principalmente, em razão do que se deseja observar.

Sobre o sinal filtrado foi aplicada uma Transformada Rápida de Fourier (FFT), a qual gera um espectro com todas as frequências contidas no sinal (Figura 6-B). As frequências foram expressas em hertz (Hz) e podem ser convertidas para o tradicional cpm (ciclos por minutos).

A amplitude das contrações, no decorrer de uma sessão de medida, foi avaliada por um parâmetro denominado AUC (*area under curve* ou área sob a curva) conforme designado por alguns autores [48-49]. A AUC, em volts por segundo (V.s), foi calculada para sinais com tempo de 20 minutos (Figura 6-C).

Para a análise das frequências das contrações 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 [50].

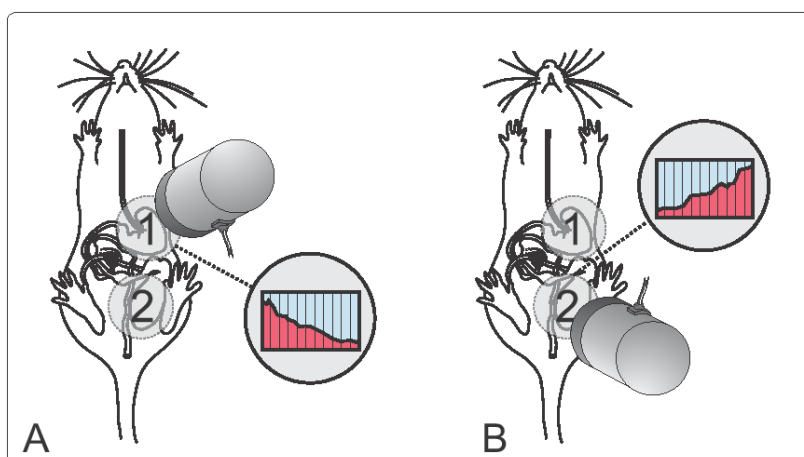


**Figura 6** - Processamento e análise de dados de contração: A) Sinal filtrado; B) Espectro de Fourier; e C) Área sobre curva retirada do sinal filtrado.

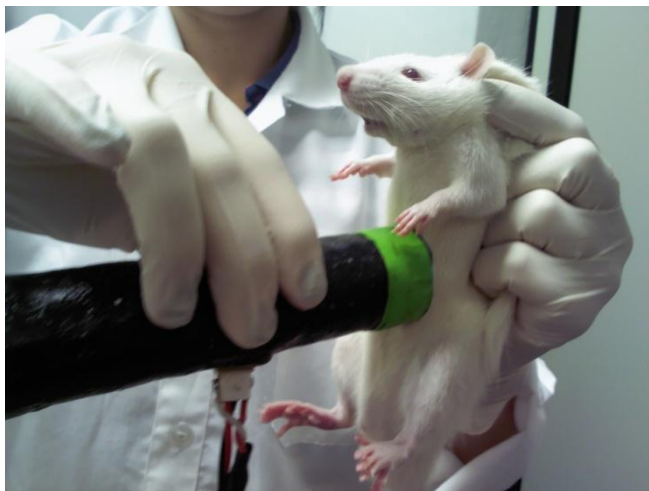
## Teste de Esvaziamento Gástrico

Na avaliação do esvaziamento gástrico foram estabelecidos dois pontos de interesse na região abdominal do animal, um correspondendo ao estômago e o outro ao ceco (Figura 7).

No início do experimento, aproximando o sensor da superfície abdominal do rato, foi obtido um dado referente ao valor de tensão basal, dependente do acoplamento entre o sensor e o animal. Este valor foi utilizado posteriormente na análise dos dados obtidos com o intuito de distinguir, dentre os resultados encontrados, os valores de tensão resultantes apenas da concentração e posição do material magnético na região. De maneira similar ao teste de atividade de contração gástrica, após jejum, o rato foi alimentado com 3 gramas da refeição teste durante 15 minutos. Em seguida, os pontos de interesse foram definidos e monitorados em intervalos pré-estabelecidos de 15 minutos com uma duração total de 360 minutos, quando já havia ocorrido a total saída do material magnético do estômago e sua chegada ao ceco do animal. Os valores dos sinais gerados pela presença e quantidade de material magnético foram adquiridos pela aproximação do sensor dos pontos de interesse (Figura 8) e a partir deles foi construída uma planilha com a evolução temporal do sinal em cada um dos pontos. A partir desses dados foi possível analisar, em tempo real, a distribuição temporal do alimento pelo trato gastrintestinal.

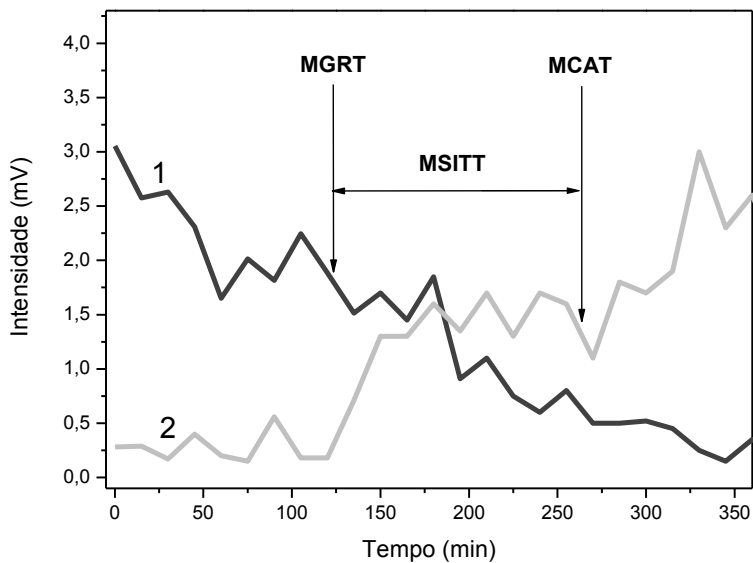


**Figura 7-** Regiões de interesse para o teste de esvaziamento gástrico e trânsito: A, projeção do estômago; e B, projeção do ceco.



**Figura 8** - Posicionamento de sensor no teste de esvaziamento.

Todos os sinais foram analisados em ambiente MatLab (Mathworks, Inc., USA), por inspeção visual e cálculo estatístico. O momento estatístico foi obtido através da média temporal ponderada pela curva de intensidade magnética, normalizada pela área sob a curva [51]. Através dessa abordagem, os seguintes parâmetros foram quantificados: tempo médio de esvaziamento gástrico (MGET, *Mean Gastric Emptying Time*), definido como o tempo em que uma quantidade média de alimento é esvaziada e calculado através da curva de variação de sinal proveniente da projeção gástrica; tempo médio de chegada de alimento no ceco (MCAT, *Mean Cecum Arrival Time*), definido como o tempo em que ocorre a chegada de uma quantidade média de alimento no ceco e calculado a partir da curva de intensidade proveniente da projeção cecal; e o tempo de trânsito no intestino delgado (SITT, *Small Intestine Transit Time*), que pode ser inferido através da diferença entre os valores de MCAT e MGET (Figura 9) [47].



**Figura 9** - Exemplo de curva de esvaziamento gástrico (1) e chegada ao ceco (2).

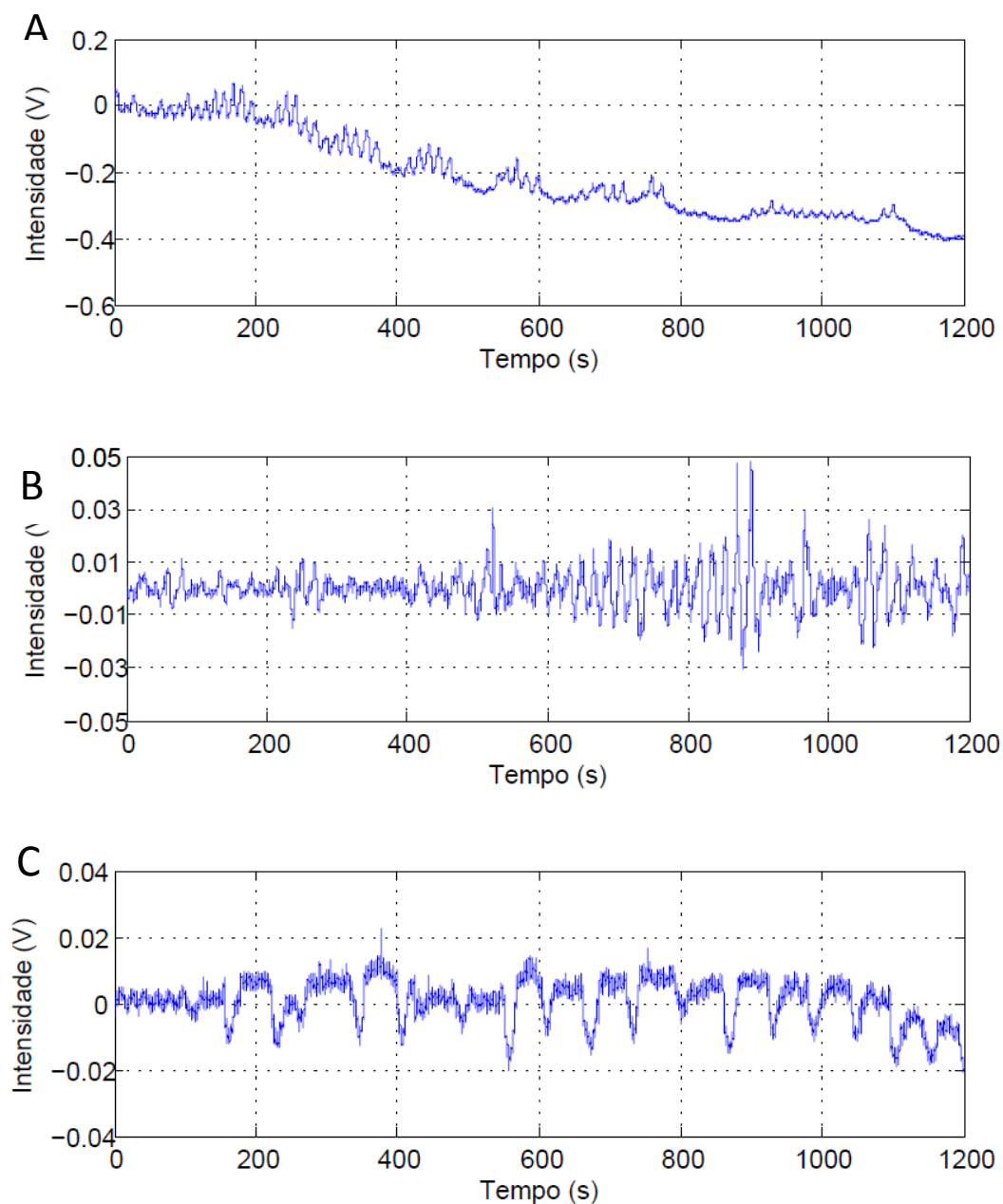
Os resultados foram expressos como média  $\pm$  DP e comparados entre os mesmos animais antes e após a gastrectomia, sendo cada animal controle de si mesmo. Através do teste t de *Student* pareado, uma diferença estatisticamente significativa foi considerada para  $p < 0,05$ . Todos os gráficos e valores estatísticos foram gerados pelos softwares MatLab (Mathworks, Inc., USA) e Origin (Origin Lab, EUA) [52].

## Resultados e Discussão

### Atividade de Contração Gástrica (ACG)

#### Pré-análise qualitativa

Em uma pré-análise qualitativa [50] dos registros mecânicos das contrações gástricas, observadas na BAC, em animais controle e submetidos à cirurgia de gastrectomia, foi possível observar que os sinais de ratos controle apresentam regularidade no perfil morfológico (amplitude e frequência) dentro de padrões apresentado na literatura e em conformidade com outros registros obtidos no laboratório. Porém, os gastrectomizados apresentam algumas características peculiares, com irregularidades na morfologia dos sinais, tais como: a) em geral possuem bom padrão de atividade tônica com frequência em torno de 1 ciclo/minuto, conforme ilustra a Figura 10-A e, em alguns animais, este padrão se torna muito intenso, possuindo fortes alterações na amplitude (Figura 10-B); b) os sinais são bastante irregulares em amplitude e frequência de contração, apresentando grande alternância na amplitude sem um padrão de frequência definido (Figura 10-C); c) muitas vezes possuem em um mesmo intervalo de medida, duas faixas de frequência, que normalmente tendem a variar durante o período avaliado (Figura 11-A), isto é, são sinais não estacionários; d) no perfil de contração também podem ser observadas modificações na morfologia individual de cada onda, isto é, deixando de ser uma aproximação senoidal e passando para uma oscilação pequena entre um pico de baixa e alta no sinal (Figura 11-C).

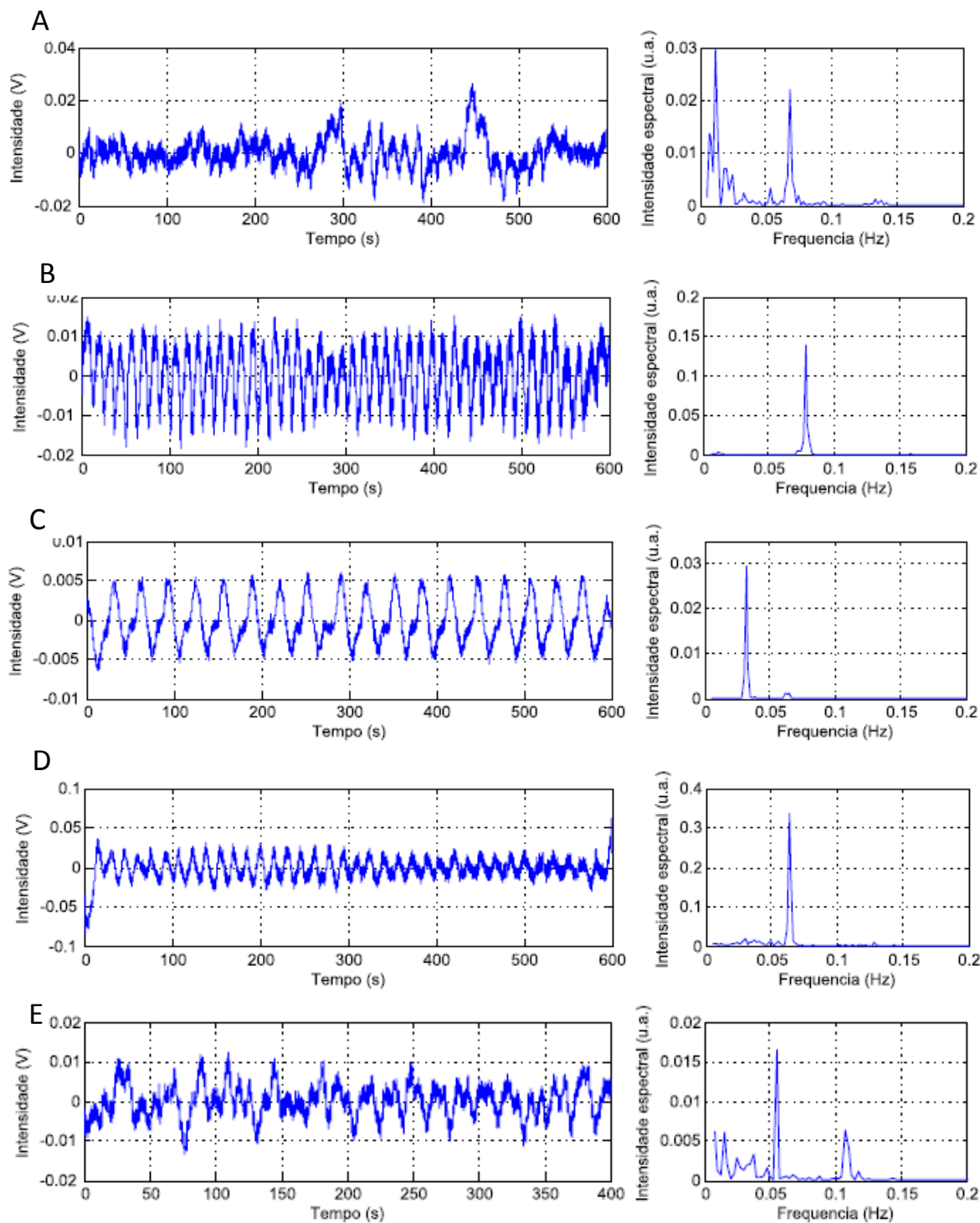


**Figura 10** - Exemplos de sinais com morfologia distinta: A) Padrão de atividade tônica; B) Fortes alterações na amplitude; e C) Alterações em período e amplitude.

### Análise quantitativa

Na Figura 11, estão exemplos de sinais adquiridos e seus respectivos espectros de frequência, para controle e gastrectomizados.





**Figura 11** - Sinais adquiridos e espectros de frequência para: A) Controle com contração tônica; B) Controle sem contração tônica, C) Gastretomizado caracterizando bradigastia, D) Gastrectomizado com frequência bem definida; E) 2 meses após a cirurgia, caracterizando taquigastia.

Os exemplos apresentados ilustram típicos sinais de dois animais controles e dois animais gastrectomizados. No primeiro animal controle é possível identificar as contração física (70 mHz) e a contração tônica (17mHz), expressas no espectro das frequências por dois picos (Figura 11-A). No segundo exemplo (Figura 11-B), o sinal apresenta

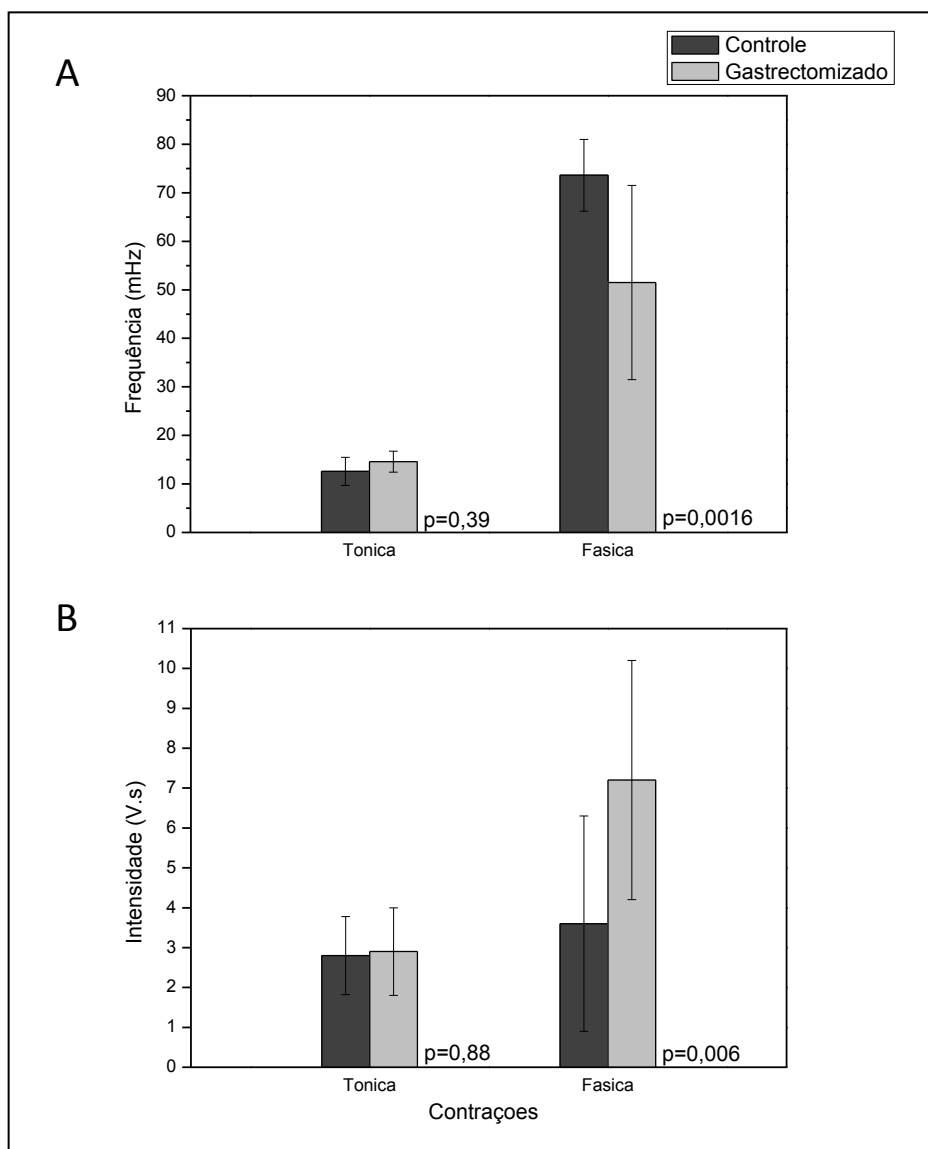
preponderância da contração fásica, aproximadamente 70 mHz. Nos exemplos de animais gastrectomizados, a Figura 11-C mostra um sinal com frequência de aproximadamente 35 mHz, caracterizando uma bradigastría. Na Figura 11-D, observa-se um animal gastrectomizado com frequência bem definida de 63 mHz. No último exemplo, a nível ilustrativo, está um sinal de um dos ratos gastrectomizados depois de 2 meses da cirurgia, nele pode-se notar uma morfologia diferente, com várias frequências simultâneas, caracterizando uma taquigastría (Figura 11-E).

### Frequências x Amplitudes

Para cada amostra foi realizada uma quantificação do respectivo sinal em termos de frequências de contração, obtida pela FFT, e das amplitudes dos sinais, pelo método de AUC. As duas contrações já conhecidas foram abordadas nessa análise, sendo elas a atividade fásica, com uma frequência padrão em ratos de 4,5 ciclo/minuto ou 75 mHz, e a contração tônica, com frequência de 1 ciclo/minuto ou 17 mHz. A intensidade de cada uma dessas contrações foi quantificada e comparada nos momentos pré e pós-gastrectomia. As médias e DP estão apresentadas na Tabela 2 e na Figura 12.

**Tabela 2** – Valores de frequência e amplitude (AUC), para as contrações fásicas e tônicas.

RATO	CONTROLE				GASTRECTOMIZADO			
	Freq. fásica (mHz)	Freq. tônica (mHz)	AUC fásica (V.s)	AUC tônica (V.s)	Freq. fásica (mHz)	Freq. tônica (mHz)	AUC fásica (V.s)	AUC tônica (V.s)
1	68,3	12,5	2,4	3,7	63,3	14,2	12	2,7
2	65,8	14,2	1,5	2,5	58,3	13,3	10,6	3,4
3	64,2	17,5	4	3,8	53,3	11,7	2,2	2,5
4	80	16,7	1,4	2	63,6	15,8	3,9	4
5	78,3	13,3	3,5	3	67,5	13,3	6,4	3,1
6	70	10,8	11,1	4,3	70	17,5	10,6	1,8
7	63,3	10	3,8	2,2	3,6	10	8,2	2,3
8	74,2	10	4,4	3,8	46,7	15,8	8,1	1,8
9	79,2	11,7	5,6	1,4	33,3	9,1	5	1,0
10	85,8	9,2	2,4	3,3	53,3	12,5	7,2	1,8
11	81,7	9,2	1,9	1,7	34,2	15,8	8,3	5,5
12	72,5	15,8	1,6	1,8	58,3	14	3,9	2,7
<b>MÉDIA</b>	73,6	12,6	3,6	2,8	50,5	13,9	7,2	2,9
<b>DP</b>	7,4	2,9	2,7	0,9	18,9	2,5	3,0	1,1



**Figura 12** - Quantificação das contrações tônicas e fásicas em termos de frequência (A) e amplitude (B) antes e depois da gastrectomia.

A partir desses dados, podemos identificar que a contração tônica do estômago não sofre alterações significativas para esse tipo de procedimento. Por outro lado, a contração fásica, geradas principalmente pelo antro [8], sofre alterações significativas tanto em frequência como em amplitude. De maneira inversa, a frequência sofreu uma diminuição de aproximadamente 70 mHz (4,2 cpm) para 50mHz (3cpm), caracterizando uma bradigastría, enquanto que a intensidade da contração teve sua intensidade aumentada em duas vezes (Figura 12). Cirurgias gástricas geram mudanças anatômicas e fisiológicas drásticas, que resultam em anormalidades nas funções motoras do estômago como a função

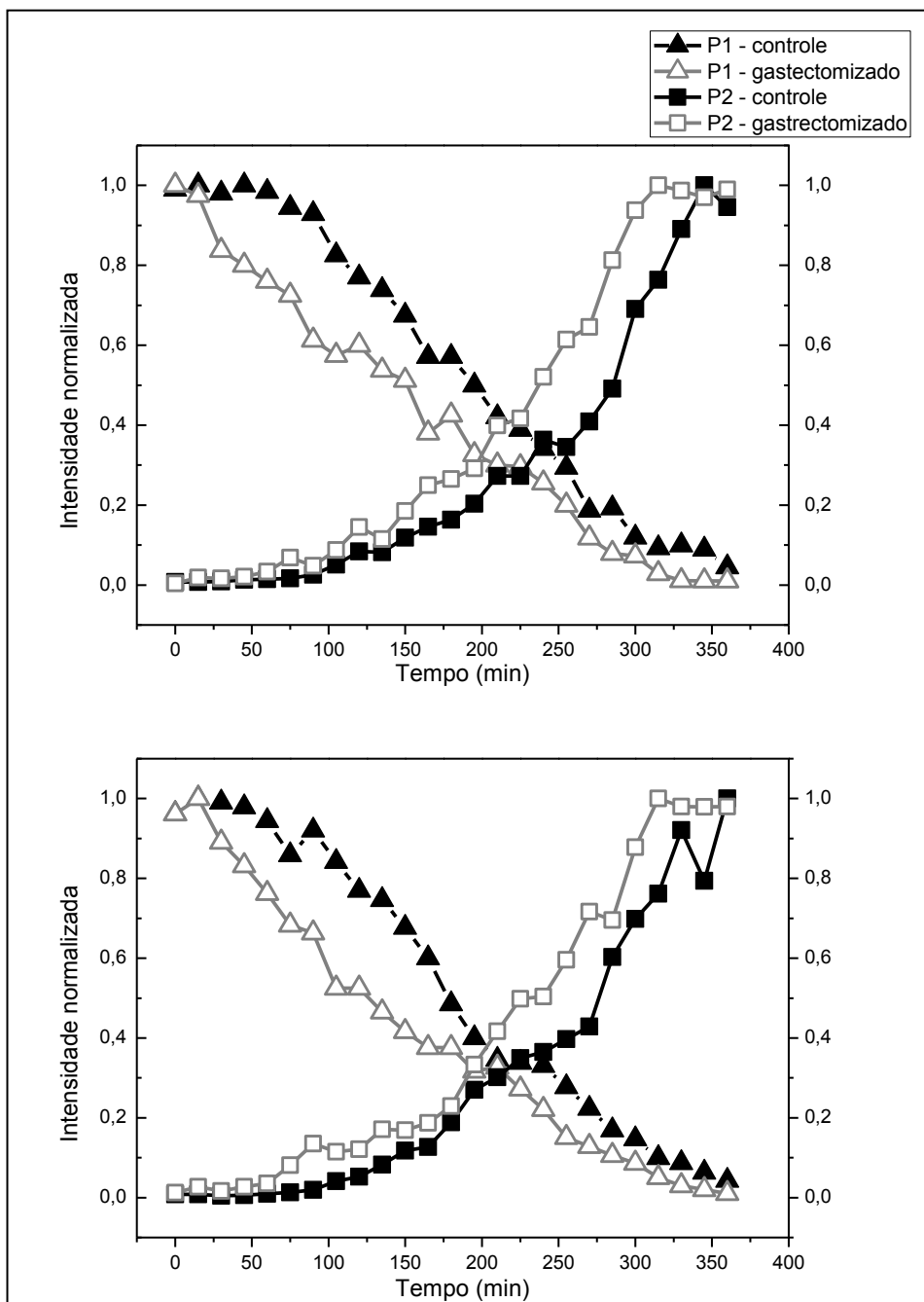
reservatório, mecano-digestiva e de transporte [53]. Com a retirada do fundo do estômago, a função reservatório foi reduzida, resultando em processos adaptativos contráteis que podem justificar a alteração de frequência e amplitude na contração fásica. Por conseguinte, fatores como falta de compatibilidade da função reservatório e alterações na intensidade de contração podem resultar em mudanças no esvaziamento gástrico [53].

## **Esvaziamento Gástrico (EG)**

### **Curva de intensidade**

Após monitoramento externo da refeição teste nas duas regiões de interesse, estômago e ceco, obtivemos como resultados curvas com as intensidades magnéticas em função do tempo para cada animal, antes e após a gastrectomia (Figura 13).

É possível observar, para as duas amostras apresentadas, um diferente perfil das curvas de esvaziamento gástrico e chegada de alimento no ceco. A taxa de esvaziamento gástrico decaiu de maneira mais rápida nos ratos gastrectomizados, descaracterizando a chamada *lag-phase*, pequeno platô, típico de esvaziamento de sólido, que está visível no animal controle. A chegada do alimento magnético ao ceco (trânsito orocecal) também ocorreu mais rapidamente no animal gastrectomizado, resultando, sob um olhar qualitativo, num processo acelerado de trânsito gastrintestinal.



**Figura 13** - Curvas de intensidade do sinal magnético pelo tempo nos momentos de controle e gastrectomizado, para os pontos: (P1), projeção do estômago; e (P2) projeção do ceco.

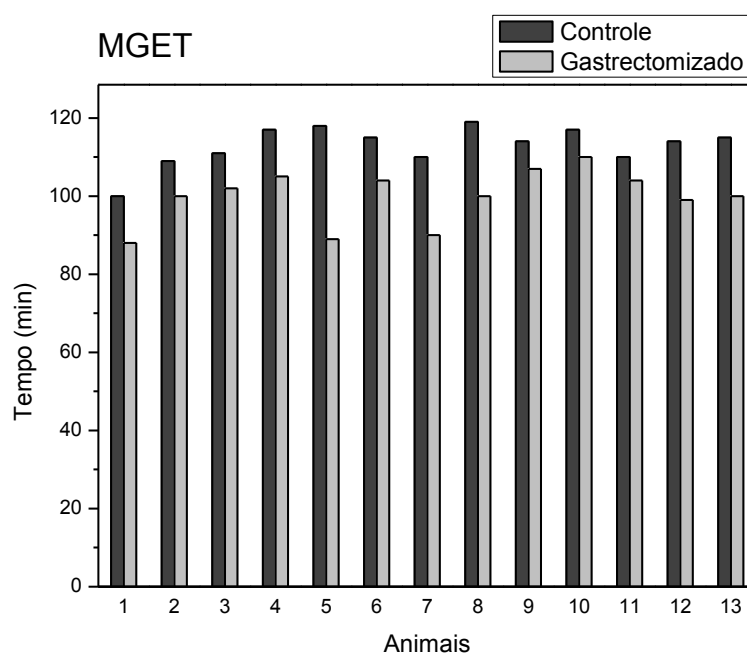
## Momentos Estatísticos

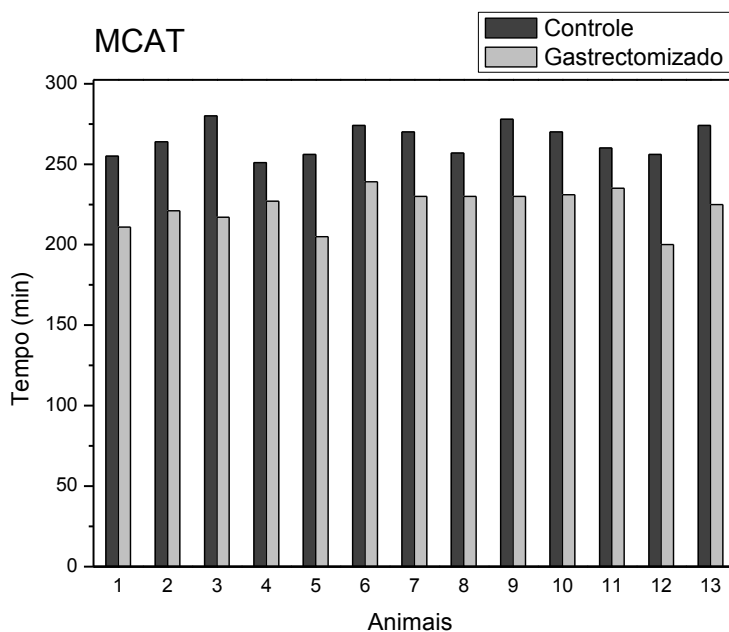
Após processamento das planilhas com os dados das curvas de esvaziamento e chegada de alimento ao ceco, os momentos estatísticos foram calculados para cada amostra e comparados no momento antes (controle) e após a cirurgia. Os dados completos estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3** – Valores, médias e desvio padrão (DP) de MGET, MCAT e SITT.

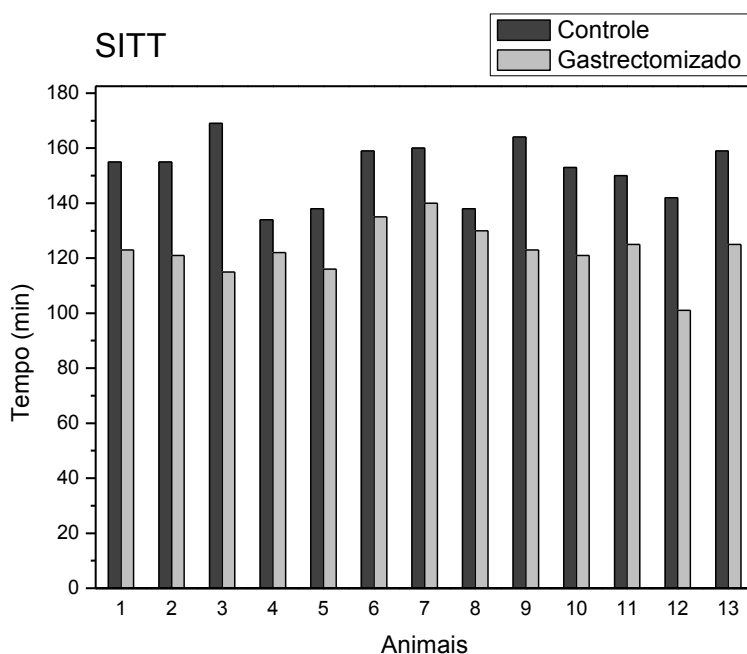
RATO	CONTROLE			GASTRECTOMIZADO		
	MGET	MCAT	SITT	MGET	MCAT	SITT
1	100	255	155	88	211	123
2	109	264	155	100	221	121
3	111	280	169	102	217	115
4	117	251	134	105	227	122
5	118	256	138	89	205	116
6	115	274	159	104	239	135
7	110	270	160	90	230	140
8	119	257	138	100	230	130
9	114	278	164	107	230	123
10	117	270	153	110	231	121
11	110	260	150	104	235	125
12	114	256	142	99	200	101
13	115	274	159	100	225	125
<b>MEDIA</b>	113	265	152	99,8	223,2	122,8
DP	5	10	11	6,9	11,8	9,5

Para uma melhor visualização e comparação com o controle, os valores de MGET, MCAT e SITT estão representados nas Figura 14, 15 e 16, respectivamente.

**Figura 14** - Valores de MGET para todas as amostras.



**Figura 15** - Valores de MCAT para todas as amostras.

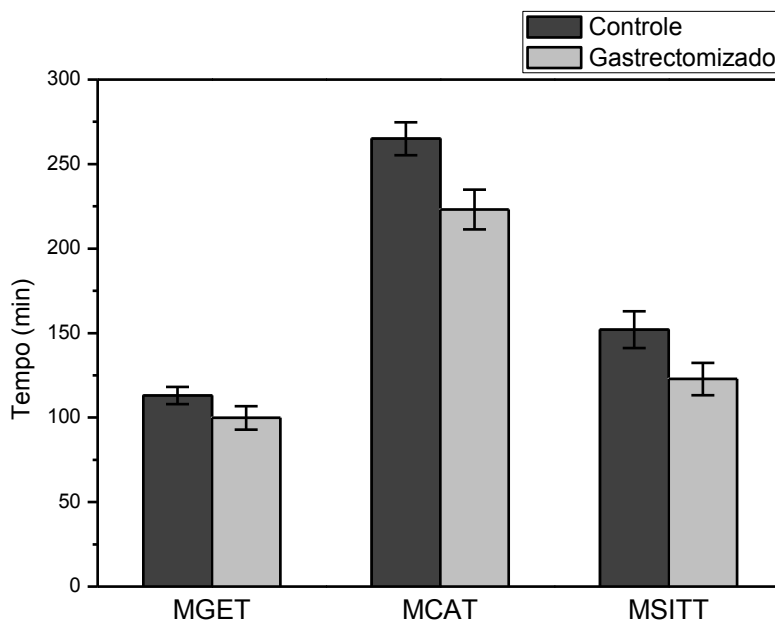


**Figura 16** - Valores de SITT para todas as amostras.

O tempo de trânsito no intestino delgado (SITT), que é a relação entre os tempos médios de esvaziamento gástrico e chegada ao ceco, variou com diferença significativa,  $p < 0,01$ . Como o MGET e o MCAT também diminuíram, o trânsito no intestino delgado, em teoria, deveria se manter praticamente constante. Porém os resultados mostram que houve uma diminuição significativa em seu valor, denotando uma diminuição mais drástica

do MCAT em relação à do MGET, podendo inferir que o procedimento de gastrectomia fúndica alterou o comportamento do intestino.

Na Figura 17, estão apresentados as médias e desvio padrão para os valores de MGET, MCAT e SITT.



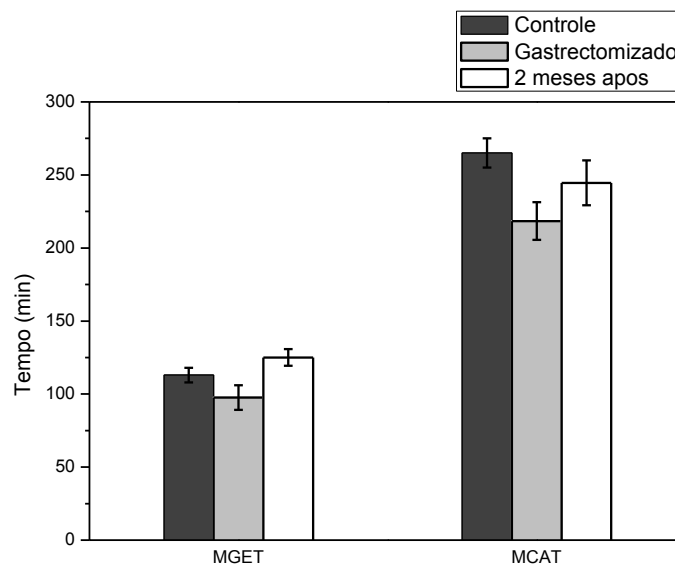
**Figura 17** - Médias e desvio padrão para MGET, MCAT e MSITT.

A comparação entre os tempos médios de esvaziamento gástrico e chegada de alimento ao ceco e o trânsito no intestino delgado demonstraram significativa diferença ( $p < 0,01$ ), evidenciando um aumento de velocidade de transporte alimentar em todos os segmentos intestinais.

O esvaziamento gástrico é controlado por vários componentes da motilidade que trabalham em conjunto, tais como componentes propulsivos (tônus fúndico e contratilidade antral) e componentes resistivos (tônus pilórico e contrações resistivas do duodeno) [54]. Sob essa perspectiva, levando em consideração os dados anteriores, as principais consequências da cirurgia foram as alterações nas contrações fásicas. Alguns estudos relatam um atraso no esvaziamento gástrico atribuído a efeitos inibitórios na motilidade gástrica, como uma diminuição nas contrações antrais e tônus gástrico [54-56]. Nesse aspecto, tivemos o esvaziamento acelerado, e a contração fásica alterada de duas maneiras, na frequência e na intensidade. Mesmo com o ritmo de contrações sendo mais lenta (menor frequência), a intensidade foi suficientemente grande de maneira a acelerar o esvaziamento.



Paralelamente aos experimentos, alguns ratos remanescentes dos experimentos foram reavaliados em medidas de esvaziamento e trânsito 2 meses após a gastrectomia. Os resultados para MGET e MCAT estão expressos na Figura 18.



**Figura 18** - Valores de MGET e MCAT, após 2 meses da gastrectomia (n=5).

De acordo com esses resultados, os valores de MGET e MCAT, que haviam diminuído com a gastrectomia, voltaram a aumentar após um período de dois meses. Comparando o grupo gastrectomizado com o de dois meses após a cirurgia, obtivemos para o MGET e MCAT,  $p=0,0003$  e  $p=0,046$ , respectivamente. Já na comparação entre o grupo controle e o de dois meses após a cirurgia, tivemos para o MGET,  $p=0,005$ , e para o MCAT  $p=0,123$ . Apesar do número de amostras reduzido (n=5), foi possível identificar uma tendência de volta aos padrões normais (controle), como um tipo de adaptação anatômico-fisiológica do órgão em resposta ao procedimento cirúrgico.

## Conclusão

Este estudo teve por objetivo utilizar a técnica BAC para avaliar o esvaziamento e a atividade de contração gástrica para alimentos sólidos em ratos antes e depois da fundectomia. Os parâmetros de trânsito gastrointestinal analisados foram significativamente influenciados pela cirurgia. O uso generalizado desse tipo de cirurgia implica em um bom entendimento de seus efeitos sobre parâmetros motores gastrintestinais.

A gastrectomia parcial realizada caracterizou-se pela retirada do fundo do estômago, local onde ocorre principalmente a acomodação do alimento [9]. A comparação entre o esvaziamento gástrico antes e depois da cirurgia mostrou uma diferença significativa. Este procedimento resultou em um trânsito mais rápido, cessando ou atenuando o processo de acomodação. Um trânsito mais rápido implica em uma menor absorção, podendo refletir assim em amplas consequências para o organismo.

Em termos de contrações tônicas, não foi observado nenhuma diferença entre o controle e gastrectomizado, tanto em intensidade de contrações, quanto em valores de frequência. Entretanto, a contração fásica teve mudanças significantes, caracterizando uma bradigastría com contrações mais intensas. A diminuição dos tempos médios de esvaziamento gástrico e chegada de alimento ao ceco bem como o trânsito no intestino delgado está relacionada com as consequências fisiológicas e adaptativas do órgão em relação à gastrectomia. Diferentes tipos de cirurgia devem causar efeitos diferentes sobre as contrações gástricas e, conseqüentemente, sobre o esvaziamento gástrico e trânsito orocecal, evidenciando possíveis diferenças nas aplicações das técnicas de gastrectomia.

Por estes resultados, a BAC foi capaz de monitorar com precisão as alterações espaciais e temporais provocados por esse procedimento cirúrgico. A associação entre os parâmetros obtidos relacionados ao esvaziamento e trânsito gastrointestinal, juntamente com a frequência e amplitude das contrações gástricas proporcionam uma perspectiva inovadora das consequências do procedimento. Com a mesma técnica foi possível avaliar parâmetros funcionais (esvaziamento e trânsito) e fisiológicos (contrações - amplitude e frequência).

As principais vantagens desta técnica biomagnética são que o sistema é uma alternativa de baixo custo, que não necessita de um ambiente controlado para ser realizado, não é invasivo, não utiliza radiação ionizante, apresenta alta versatilidade e fácil manuseio. A BAC se apresenta como interessante método para avaliar as funções motoras do TGI e ainda possibilita alterações em sua configuração, a utilização de multissensores e também

o emprego de marcadores magnético líquidos nano estruturados de forma a expandir a aplicabilidade dessa técnica.

Em síntese, este estudo possibilitou observar que ratos com gastrectomia parcial fúndica apresentam bradigastria com aumento de intensidade nas contrações fásica e consequente diminuição no tempo de esvaziamento gástrico e trânsito intestinal e orocecal.

## Referências

1. ALVAREZ-CORDERO, R., *Treatment of clinically severe obesity, a public health problem: Introduction*. **World Journal of Surgery**, 1998. 22(9): p. 905-906.
2. HUBERT, H.B., et al., *Obesity as an Independent Risk Factor for Cardiovascular-Disease - a 26-Year Follow-up of Participants in the Framingham Heart-Study*. **Circulation**, 1983. 67(5): p. 968-977.
3. *Sociedade Brasileira De Cirurgia Bariátrica e Metabólica SBCBM*. 2011. Disponível em: <<http://www.sbc.org.br>> Acesso em: 20 de nov. 2011.
4. BEN-MENACHEM, E., *Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: The evidence report*. **Epilepsia**, 2007. 48: p. 42-45.
5. MACDONALD, K.G., *Overview of the epidemiology of obesity and the early history of procedures to remedy morbid obesity*. **Archives of Surgery**, 2003. 138(4): p. 357-360.
6. CHENG, L.K. *A model of the electrical activity of the stomach: from the cells to the body surface*. in *25th Annual International Conference of the IEEE EMBS*. 2003. Cancun.
7. RAO, S.S.C., et al., *Fundic balloon distension stimulates antral and duodenal motility in man*. **Digestive Diseases and Sciences**, 2002. 47(5): p. 1015-1019.
8. NGUYEN, N.Q., et al., *Functional association between proximal and distal gastric motility during fasting and duodenal nutrient stimulation in humans*. **Neurogastroenterology and Motility**, 2007. 19(8): p. 638-645.
9. AHLUWALIA, N.K., D.G. Thompson, and J. Barlow, *Effect of distension and feeding on phasic changes in human proximal gastric tone*. **Gut**, 1996. 39(5): p. 757-761.
10. KINDT, S. and TACK, J., *Impaired gastric accommodation and its role in dyspepsia*. **Gut**, 2006. 55(12): p. 1685-1691.
11. KUIKEN, S.D., et al., *Development of a test to measure gastric accommodation in humans*. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, 1999. 277(6): p. G1217-G1221.
12. AZPIROZ, F. and MALAGELADA, J.R., *Gastric Tone Measured by an Electronic Barostat in Health and Postsurgical Gastroparesis*. **Gastroenterology**, 1987. 92(4): p. 934-943.
13. ALLOCCA, M. and R. Penagini, *Effect of phasic contractions and tone of the proximal stomach on triggering of transient lower esophageal sphincter relaxation*. **Dig Dis Sci**, 2004. 49(5): p. 710-4.
14. DI STEFANO, M., et al., *Neostigmine-induced postprandial phasic contractility in the proximal stomach and dyspepsia-like symptoms in healthy volunteers*. **Am J Gastroenterol**, 2006. 101(12): p. 2797-804.
15. SIMREN, M., et al., *Unsuppressed postprandial phasic contractility in the proximal stomach in functional dyspepsia: relevance to symptoms*. **Am J Gastroenterol**, 2003. 98(10): p. 2169-75.
16. AZPIROZ, F. and MALAGELADA, J.R., *Physiological variations in canine gastric tone measured by an electronic barostat*. **American Journal of Physiology**, 1985. 248(2 Pt 1): p. G229-37.
17. TACK, J., et al., *Influence of sumatriptan on gastric fundus tone and on the perception of gastric distension in man*. **Gut**, 2000. 46(4): p. 468-73.

18. LEE, K.J., et al., *Differential effects of baclofen on lower oesophageal sphincter pressure and proximal gastric motility in humans*. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, 2003. 18(2): p. 199-207.
19. QUINI, C.C., et al., *Employment of a noninvasive magnetic method for evaluation of gastrointestinal transit in rats*. **J Biol Eng**, 2012. 6(1): p. 6.
20. BROGNA, A., et al., *Gastric emptying rates of solid food in relation to body mass index: an ultrasonographic and scintigraphic study*. **Eur J Radiol**, 1998. 27(3): p. 258-63.
21. O'DONOVAN, D., *Gastric Emptying*, in *Encyclopedia of Gastroenterology*. 2004. p. 118-124.
22. CANNON, W.B. and C.W. Lieb, *The receptive relaxation of the stomach*. **American Journal of Physiology**, 1911. 29(2): p. 267-273.
23. HELLSTROM, P.M., GRYBACK, P. and JACOBSSON, H., *The physiology of gastric emptying*. **Best Pract Res Clin Anaesthesiol**, 2006. 20(3): p. 397-407.
24. MASUDA, Y., et al., *Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats*. **Biochem Biophys Res Commun**, 2000. 276(3): p. 905-8.
25. SZARKA, L.A. and CAMILLERI, M., *Gastric emptying*. **Clin Gastroenterol Hepatol**, 2009. 7(8): p. 823-7.
26. MARTINEZ-DE-JUAN, J.L., et al., *Small bowel motility: relationship between smooth muscle contraction and electroenterogram signal*. **Medical Engineering & Physics**, 2000. 22(3): p. 189-199.
27. CAMILLERI, M. and FORD, M.J., *Review article: colonic sensorimotor physiology in health, and its alteration in constipation and diarrhoeal disorders*. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, 1998. 12(4): p. 287-302.
28. AZPIROZ, F. and MALAGELADA, J.R., *Intestinal Control of Gastric Tone*. **American Journal of Physiology**, 1985. 249(4): p. G501-G509.
29. HUIZINGA, J.D., et al., *Electrophysiologic Control of Motility in the Human-Colon*. **Gastroenterology**, 1985. 88(2): p. 500-511.
30. SCARPIGNATO, C., CAPOVILLA, T. and BERTACCINI, G., *Action of caerulein on gastric emptying of the conscious rat*. **Arch Int Pharmacodyn Ther**, 1980. 246(2): p. 286-94.
31. WEITSCHIES, W., et al., *Magnetic Markers as a Noninvasive Tool to Monitor Gastrointestinal Transit*. **Ieee Transactions on Biomedical Engineering**, 1994. 41(2): p. 192-195.
32. DI LUZIO, S.C., et al., *A biomagnetic method for studying gastro-intestinal activity*. **Il Nuovo Cimento D**, 1989. 11(12): p. 6.
33. MIRANDA, J.R., et al., *An AC biosusceptometer to study gastric emptying*. **Med Phys**, 1992. 19(2): p. 445-8.
34. CARNEIRO, A. et al., *Biomagnetismo: Aspectos Instrumentais e Aplicações*. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, 2000. 22(3): p. 14.
35. ROMANI, G.L., WILLIAMSON, S.J., and KAUFMAN, L., *Biomagnetic instrumentation*. **Rev Sci Instrum**, 1982. 53(12): p. 1815-45.
36. MIRANDA, J.R., et al., *A novel biomagnetic method to study gastric antral contractions*. **Phys Med Biol**, 1997. 42(9): p. 1791-9.
37. BAFFA, O., et al., *Analysis and development of AC biosusceptometer for oro-caecal transit time measurements*. **Med Biol Eng Comput**, 1995. 33(3): p. 353-7.
38. MORAES, R., et al., *Measurement of gastric contraction activity in dogs by means of AC biosusceptometry*. **Physiol Meas**, 2003. 24(2): p. 337-45.

39. AMERICO, M.F., et al., *Scintigraphic validation of AC Biosusceptometry to study the gastric motor activity and the intragastric distribution of food in humans.* **Neurogastroenterol Motil**, 2007. 19(10): p. 804-11.
40. CORA, L.A., et al., *Gastrointestinal transit and disintegration of enteric coated magnetic tablets assessed by ac biosusceptometry.* **Eur J Pharm Sci**, 2006. 27(1): p. 1-8.
41. ANDREIS, U., et al., *Gastric motility evaluated by electrogastrography and alternating current biosusceptometry in dogs.* **Physiol Meas**, 2008. 29(9): p. 1023-31.
42. AMERICO, M.F., et al., *Validation of ACB in vitro and in vivo as a biomagnetic method for measuring stomach contraction.* **Neurogastroenterol Motil**, 2010. 22(12): p. 1340-4, e374.
43. BELIKOV, V.G.K., A.G., *Generation and Medicobiological Application of Magnetic Fields and Carriers (Review).* **Pharmaceutical Chemistry Journal**, 2001. 35(2): p. 7.
44. CORA, L.A., et al., *Biomagnetic methods: technologies applied to pharmaceutical research.* **Pharm Res**, 2011. 28(3): p. 438-55.
45. REITZ, J.R., F.J. MILFORD, and R.W. CHRISTY, **Fundamentos da Teoria Eletromagnética.** Rio de Janeiro: Campus, 1982. 516p.
46. BASTUSCHECK, C.M. and S.J. WILLIAMSON, *Technique for measuring the ac susceptibility of portions of the human body or other large objects,* in **Journal of Applied Physics**. 1985. p. 3896-3906.
47. QUINI, C.C. **Biosusceptometria de Corrente Alternada para Avaliação de Esvaziamento Gástrico e Trânsito Gastrintestinal.** 2011. 32f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.
48. SARNA, S.K., et al., *Gastrointestinal motor effects of erythromycin in humans.* **Gastroenterology**, 1991. 101(6): p. 1488-96.
49. SARNA, S.K., *Physiology and pathophysiology of colonic motor activity (1).* **Dig Dis Sci**, 1991. 36(6): p. 827-62.
50. REDDY, S.N., S.M. COLLINS, and DANIEL, E.E., *Frequency analysis of gut EMG.* **Crit Rev Biomed Eng**, 1987. 15(2): p. 95-116.
51. PODCZECK, F., NEWTON, J.M. and YUEN. K.H., *The description of the gastrointestinal transit of pellets assessed by gamma scintigraphy using statistical moments.* **Pharm Res**, 1995. 12(3): p. 376-9.
52. TEIXEIRA, M.C., et al., *Assessment of gastrointestinal motility in renal transplant recipients by alternate current biosusceptometry.* **Transplant Proc**, 2012. 44(8): p. 2384-7.
53. EAGON, J.C., MIEDEMA, B.W. and KELLY, K.A., *Postgastrectomy syndromes.* **Surg Clin North Am**, 1992. 72(2): p. 445-65.
54. ZHAO, X., et al., *Inhibitory effects and mechanisms of intestinal electrical stimulation on gastric tone, antral contractions, pyloric tone, and gastric emptying in dogs.* **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, 2009. 296(1): p. R36-42.
55. ANDREIS, U. *Effect of erythromycin on motility and gastric emptying in dogs, by AC Biosusceptometry.* in *15th International Conference on Biomagnetism*. 2006. Vancouver, Canada.
56. TUMER, C., et al., *Effect of ghrelin on gastric myoelectric activity and gastric emptying in rats.* **Regulatory Peptides**, 2008. 146(1-3): p. 26-32.