

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO” – UNESP**

**INSTITUTO DE BIOCÊNCIA DE BOTUCATU-SP**

**Avaliação do esvaziamento gástrico na fase sólida pelo teste  
respiratório com  $^{13}\text{C}$**

**Aluna**

Paola Cristina Faccin

**Orientador**

Prof. Ass. Dr. Vladimir Eliodoro Costa

Centro de Isótopos Estáveis – IBB/UNESP

**Coorientadora**

Prof<sup>a</sup> Ass. Dr<sup>a</sup> Kátia Hiromoto Koga

Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem – FMB/UNESP

Botucatu-SP, 2018

Paola Cristina faccin

**Avaliação do esvaziamento gástrico na fase sólida pelo teste  
respiratório com  $^{13}\text{C}$**

Dissertação apresentada ao programa de  
Pós-graduação em Biotecnologia do  
Instituto de Biociências, Universidade  
Estadual Paulista - UNESP, para o exame  
geral de obtenção do Título de Mestre.

*Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa*  
(Orientador)

Botucatu-SP, 2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Faccin, Paola Cristina.

Avaliação do esvaziamento gástrico sólido pelo teste respiratório com <sup>13</sup>C / Paola Cristina Faccin. - Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Vladimir Eliodoro Costa

Coorientador: Kátia Hiromoto Koga

Capes: 10504001

1. Estomago - Cirurgia. 2. Isótopos estáveis. 3. Testes respiratórios. 4. Spirulina. 5. Carbono-13.

Palavras-chave: Ácido octanoico; Carbono 13; Esvaziamento gástrico; Isótopos estáveis; Spirulina platensis. |

## **Comissão Examinadora**

Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa  
Centro de Isótopos Estáveis “Prof. Dr. Carlos Ducatti” – IBB/UNESP  
(Orientador)

Prof. Dr. Rodrigo Strehl Machado  
Departamento de Pediatria – UNIFESP  
(Membro titular)

Profa. Adj. Dra. Célia Regina Nogueira  
Departamento de Clínica Médica – Unipex, FMB/UNESP  
(Membro titular)

*Faça as coisas que você sempre quis,  
nós não vamos te segurar, nem pedir  
que volte.*

*Não pense, apenas faça.*

*Mais do que qualquer coisa, nós  
queremos te ver ir.*

*Tire uma gloriosa mordida do mundo  
inteiro!*

Aos meus pais,  
Obrigada pelo amor!

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho jamais existiria sem o apoio dos meus pais, nada do que conquisei até hoje seria possível se eles não tivessem feito sacrifícios. Abriram mão da presença de uma filha, me deixaram ir buscar o que nem eu sabia, me permitiram conhecer o que eles nem imaginavam existir. Me apoiam e me inspiram. Tudo isso é resultado do trabalho deles e desse amor. Sou eternamente grata.

Agradeço ainda a minha irmã Pamela, por me incentivar sempre, por acreditar em mim e ser uma mulher tão inspiradora. E ao meu cunhado Ricardo, pelo apoio, atenção e generosidade de sempre. Vocês são meu porto seguro em São Paulo, meus exemplos.

Minha irmã Izadora, obrigada por ser a pessoa mais jovem, inteligente e doce dessa família, por ser tão forte e compreensível. Obrigada por ter crescido sem mim e por continuar me amando mesmo depois disso.

Meus agradecimentos às pessoas que me apoiaram e contribuíram ativamente neste trabalho. Todas as voluntárias que confiaram em mim, obrigada pela disponibilidade e paciência. Meu orientador Vladimir, obrigada por ser tão receptivo, por todos os conselhos e ensinamentos, por acreditar em mim. Obrigada Professora Kátia pelos ensinamentos, por coorientar este processo e por me receber tão bem na Medicina Nuclear. Professora Célia, sou muito grata por sua contribuição, por ser sempre tão atenciosa e pela oportunidade de ter sua orientação nos próximos anos de aprendizado. Aos amigos Rebeca, Larissa, Marcão e Diego, pelo cuidado com que me receberam e pelo profissionalismo com que realizaram as cintilografias.

Obrigada ao Centro de Isótopos Estáveis “Prof. Dr. Carlos Ducatti” por ter aceitado esse desafio comigo, obrigada a todas as pessoas que fazem com que o CIE seja um lugar maravilhoso de se estar. Mari, Nadia, Bele, Cris, Prof. Paulo e alunos que desenvolvem trabalhos e alegram ainda mais o ambiente. Evandro, muito obrigada pela atenção e pelas análises.

Sou grata também às pessoas que conviveram comigo durante esses dois anos de mestrado, minha amiga Beatriz, por ter sido minha maior parceira em Botucatu, por não me deixar sozinha, por ser minha irmã todos esses anos. Michele, obrigada por surgir na minha vida como um grande presente, por ser minha companheira todos os dias, por me ajudar e me incentivar. Minhas amigas, Luiza e Ana, obrigada por deixarem nossa casa tão leve e divertida todos os dias, obrigada por cuidarem de mim. Mariana, obrigada por sua amizade, pela confiança e pelos momentos felizes e tristes que compartilha comigo. André, sou grata por todas as gargalhadas que tirou de mim, por todos os cafés e toda paciência que teve comigo, obrigada por ter me tirado da bolha.

Agradeço ainda aos professores e amigos Bruno, Gabriel, Rodrigo e Virgílio, por transformarem meus treinos em terapia e aos amigos que me fazem companhia nos final de semana, Paulo Mateus, Carol, Lesbi, Pará e Bruno, grata por nossas histórias.

## RESUMO

No processo de digestão o esvaziamento gástrico (GE) é um passo importante para a assimilação de nutrientes. Embora a cintilografia o padrão-ouro para diagnosticar anormalidades no tempo de GE, sua aplicação é restringida pela exposição à radiação. O teste respiratório realizado com substrato marcado com o isótopo estável do carbono ( $^{13}\text{C}$ ) como a [ $^{13}\text{C}$ ]-*Spirulina platensis* ( $^{13}\text{C}$ -SpBT) ou o [ $^{13}\text{C}$ ]-Ácido octanoico ( $^{13}\text{C}$ -OBT) oferece um diagnóstico não invasivo para o GE e apresenta bons resultados e pode ser utilizado em crianças e gestantes. Os objetivos deste estudo são correlacionar os resultados do GE obtidos por  $^{13}\text{C}$ -OBT e  $^{13}\text{C}$ -SpBT com os gerados por cintilografia, avaliar e otimizar a metodologia de processamento de dados dos dois testes respiratórios. Foram realizados os exames de cintilografia e o  $^{13}\text{C}$ -SpBT simultaneamente e, em outro momento, o  $^{13}\text{C}$ -OBT. As imagens cintilográficas foram realizadas imediatamente após o consumo da refeição (t=0) e em 1, 2 e 4h. As amostras de expiração, para os testes respiratórios, foram coletas em jejum e após 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180 e 240min da ingestão da refeição e analisadas por ABCA-IRMS. O estudo mostrou que o uso do  $^{13}\text{C}$ -SpBT é eficiente quando comparado à cintilografia, mas alterações na composição nutricional do  $^{13}\text{C}$ -OBT impossibilitaram a correlação entre seus resultados e os obtidos por cintilografia. Ainda assim, o trabalho assegura que o processamento de dados do  $^{13}\text{C}$ -OBT e do  $^{13}\text{C}$ -SpBT pode ser otimizado.

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

**Figura 1.** Em A, imagem representando o momento da coleta de expiração, com o auxílio de um canudo, em um tubo de vidro etiquetado de 12 ml, durante o  $^{13}\text{C}$ -BT. Em B, foto obtida durante a aquisição de uma imagem cintilográfica com a paciente posicionada ereta e imóvel entre os colimadores de uma gama câmara ..... 24

**Tabela 1.** Equações propostas por Schofield, em 1985, para estimativa a taxa metabólica basal (BMR) em MJ/dia, considerando idade, sexo, peso e altura de cada indivíduo (SCHOFIELD, 1985) ..... 29

**Figura 2.** Curvas de contagem\* $10^3$ , em função do tempo, de 24 pacientes submetidos à cintilografia de GE sólido. Em A, as curvas representam o resultado de cada paciente e em B, a curva corresponde às médias de contagem\* $10^3$  para cada tempo de coleta com barras verticais indicando o desvio-padrão ..... 33

**Tabela 2.** Valores de Taxa Metabólica Basal – BMR(MJ/dia), Gasto energético – EE(kcal/dia), Volume de  $\text{CO}_2$  expirado -  $\text{VCO}_2$ (mol $\text{CO}_2$ /dia) e Taxa de produção de  $\text{CO}_2$  -  $\text{CO}_2\text{PR}$ (mmol $\text{CO}_2$ /dia) calculados para 24 pacientes do sexo feminino..... 34

**Figura 3.** Resultados de DOB por  $^{13}\text{C}$ -SpBT de 24 pacientes. Em A, as curvas de DOB em função do tempo para cada um dos pacientes e em B o valor médio de DOB para cada momento t e seu respectivo desvio-padrão ..... 35

**Figura 4.** Resultados do  $^{13}\text{C}$ -SpBT de 24 pacientes, representados em A pelas curvas de  $^{13}\text{C}$ \_kPCD em função do tempo para cada paciente e em B pela média dos valores de  $^{13}\text{C}$ \_kPCD em cada momento t e seu desvio-padrão (barras verticais)..... 35

**Figura 5.** Resultados de DOB por  $^{13}\text{C}$ -OBT de 20 pacientes. Em A, as curvas de DOB em função do tempo para cada um dos pacientes e em B o valor médio de DOB para cada momento t e seu respectivo desvio-padrão (barras verticais) ..... 36

**Figura 6.** Resultados do  $^{13}\text{C}$ -OBT de 20 pacientes, representados em A pelas curvas de  $^{13}\text{C}$ \_PDR\* $10^2$  em função do tempo para cada paciente e em B pela média dos valores de  $^{13}\text{C}$ \_PDR\* $10^2$  em cada momento t e seu desvio-padrão, mostrado pelas barras verticais ..... 36



**Figura 7.** Resultados de cDOB por  $^{13}\text{C}$ -OBT de 21 pacientes. Em A as curvas de cDOB em função do tempo para cada um dos pacientes e em B o valor médio de cDOB para cada momento do tempo e seu respectivo desvio-padrão..... 37

**Figura 8.** Resultados obtidos por  $^{13}\text{C}$ -OBT, de 20 pacientes, representados, em A, pelas curvas de  $^{13}\text{C\_cPDR} \cdot 10^2$  em função do tempo para cada paciente e em B pela média dos valores de  $^{13}\text{C\_cPDR} \cdot 10^2$  em cada momento t e seu desvio-padrão, mostrado pelas barras verticais..... 37

**Tabela 3.** Resultado dos valores de  $T_{1/2}(\text{min})$  calculados por  $^{13}\text{C}$ -OBT, cintilografia,  $^{13}\text{C}$ -SpBT com 4 pontos,  $^{13}\text{C}$ -SpBT com 10 pontos e a diferença (%) entre os  $T_{1/2}$  calculados por  $^{13}\text{C}$ -SpBT, além dos valores de média e desvio-padrão ..... 38

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

|  |   |
|--|---|
| <b>GE</b>  | “ <i>Gastric Emptying</i> ” – Esvaziamento Gástrico   |
| <b>T<sub>1/2</sub></b>                             | Tempo de meio esvaziamento gástrico de fase sólida  |
| <b>Sn-<sup>99m</sup>Tc</b>                         | Estanho coloidal marcado com tecnécio-99metaestável   |
| <b><sup>13</sup>C-BT</b>                           | “ <i><sup>13</sup>C- Breath Test</i> ” – Teste respiratório com <sup>13</sup> C   |
| <b><sup>13</sup>C-GEBT</b>                         | “ <i><sup>13</sup>C-Gastric Emptying Breath Test</i> ” – Teste respiratório com <sup>13</sup> C para esvaziamento gástrico  |
| <b>[<sup>13</sup>C]-<i>Spirulina platensis</i></b> | <i>Spirulina platensis</i> marcada com <sup>13</sup> C  |
| <b>[<sup>13</sup>C]-ácido octanoico</b>            | Ácido octanoico marcado com <sup>13</sup> C   |
| <b><sup>13</sup>C-SpBT</b>                         | Teste respiratório com [ <sup>13</sup> C]- <i>Spirulina platensis</i>   |
| <b><sup>13</sup>C-OBT</b>                          | Teste respiratório com [ <sup>13</sup> C]-ácido octanoico   |
| <b>SD</b>  | Síndrome de Dumping   |
| <b>ABCA-IRMS</b>                                   | “ <i>Automated Breath Carbon Analyzer – Isotope Ratio Mass Spectrometer</i> ” - Espectrômetro de massa de razão isotópica - analisador automático de carbono no Sopro |
| <b>NDIRS</b>                                       | “ <i>Non Dispersive Isotope – Selective Infrared Spectroscopy</i> ” - Espectroscópio infravermelho seletivo de isótopos não dispersivos                               |
| <b><sup>13</sup>C_PDB</b>                          | “ <i>Pee Dee Belemnite</i> ” - Padrão internacional para análise isotópica do Carbono   |
| <b>δ<sup>13</sup>C</b>                             | Enriquecimento isotópico  |
| <b>DOB</b>   | “ <i>Delta over baseline</i> ” - Variação entre basal e amostra   |
| <b>BMR</b>   | “ <i>Basal Metabolic Rate</i> ” – Taxa de metabolismo basal   |
| <b>EE</b>  | “ <i>Energy Expenditure</i> ” – Gasto energético  |
| <b>VCO<sub>2</sub></b>                             | Volume de CO <sub>2</sub>   |
| <b>CO<sub>2</sub>PR</b>                            | Taxa de produção de CO <sub>2</sub>   |
| <b>R<sub>PDB</sub></b>                             | Razão isotópica “ <i>Pee Dee Belemnite</i> ” – Padrão internacional.  |

**$^{13}\text{C\_kPCD}$**

Porcentagem de dose de  $^{13}\text{CO}_2$  excretado na expiração

**$^{13}\text{C\_cPDR}$**

Porcentagem de Dose Recuperada de  $^{13}\text{CO}_2$  com valores cumulativos

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO.....  | 12 |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA .....  | 15 |
| 3. PACIENTES E MÉTODOS .....  | 21 |
| 3.1. Delineamento experimental .....  | 21 |
| 3.2. Pacientes .....  | 21 |
| 3.3. Cintilografia e $^{13}\text{C}$ -SpBT .....  | 22 |
| 3.5. Processamento dos dados.....   | 25 |
| 3.5.1. <i>Cintilografia de esvaziamento gástrico de fase sólida</i> .....   | 25 |
| 3.5.2. <i>Teste respiratório para esvaziamento gástrico de fase sólida com [<math>^{13}\text{C}</math>]-<br/>Spirulina plantensis (<math>^{13}\text{C}</math>-SpBT)</i> ..... | 27 |
| 3.5.3. <i>Teste respiratório de esvaziamento gástrico de fase sólida com [<math>^{13}\text{C}</math>]-ácido<br/>octanoico (<math>^{13}\text{C}</math>-OBT)</i> .....          | 30 |
| 3.6. Análise Estatística.....   | 32 |
| 4. RESULTADOS .....   | 33 |
| 5. DISCUSSÃO .....  | 39 |
| 7. CONCLUSÃO.....   | 46 |
| BIBLIOGRAFIA .....  | 47 |

## 1. INTRODUÇÃO

Durante todo o trânsito gastrointestinal inúmeras reações físicas e químicas ocorrem em ritmo coordenado e pequenas alterações neste processo podem dificultar o aproveitamento completo dos alimentos ingeridos afetando a manutenção natural da vida. No processo de digestão o esvaziamento gástrico (“*Gastric Emptying*” - GE) é um passo importante para a assimilação desses nutrientes e anormalidades no tempo de duração do GE (lento ou acelerado) podem gerar problemas clínicos (HAUSER et al., 2016; GUYTON, 2011).

O diagnóstico de anormalidades no tempo de GE inclui a determinação do tempo necessário para que metade do bolo alimentar (sólido ou líquido) presente no estômago atravesse o piloro e entre no intestino delgado. Este tempo é denominado tempo de meio GE ( $T_{1/2}$ ). O método mais utilizado para obtenção deste diagnóstico é o cintilográfico, com bom custo-benefício, não invasivo, com medição quantitativa do GE através da ingestão de refeição marcada com o radioisótopo Estanho coloidal- $^{99m}\text{Tc}$  (Sn- $^{99m}\text{Tc}$ ). Mesmo que sem riscos ao paciente, a cintilografia é um procedimento que ocorre com a ingestão de fonte radioativa não selada, acarretando em exposição à radiação (BRUNO et al., 2013; WYLLIE; HYAMS, 2011).

Antagônico ao uso de radioisótopos, que restringem a aplicabilidade da cintilografia, vem sendo utilizados isótopos estáveis (não radioativos) em diversos procedimentos de diagnóstico clínico, principalmente em doenças gastrointestinais. A utilização de isótopos estáveis como marcadores, além de não restringir gestantes e crianças, oferece grandes vantagens na avaliação de uma variedade de processos metabólicos e fisiológicos em seres vivos (BRADEN, 2009).

O teste respiratório com substrato marcado com o isótopo estável do  $^{13}\text{C}$  (“ $^{13}\text{C}$ -*Gastric Emptying Breath Test*” -  $^{13}\text{C}$ -GEBT) é um método de diagnóstico não invasivo, pois analisa amostras de expiração (sopro) do paciente. A análise isotópica dessas amostras determina a razão isotópica do carbono no dióxido do carbono ( $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ) expirado. O  $^{13}\text{C}$ -GEBT é realizado por meio de coletas de expiração obtidas antes e após a ingestão de um substrato marcado com  $^{13}\text{C}$ , que revela quantitativamente e qualitativamente os processos metabólicos do organismo (BRUNO et al., 2013; BONFRATE et al. 2015; CHOI et al., 1997; NGUYEN et al., 2008; NGUYEN et al., 2013; ODUNSI et al., 2009; PUNKKINEN et al., 2006; PIZZOFERRATO et al., 2013; BHARUCHA et al., 2016; SZARKA et al., 2008; CHAPMAN et al., 2011; KARAMANOLIS et al., 2007; HAUSER et al., 2016; BHLTHSCI et al., 2015; BROMER et al., 2002; DEANE et al., 2010). As análises das amostras podem ser realizadas posteriormente, em laboratório, utilizando espectrometria de massa de razão isotópica ou espectroscopia de infravermelho (BHARUCHA et al., 2016; SZARKA et al., 2008).

Para avaliação do  $T_{1/2}$ , o  $^{13}\text{C}$ -GEBT utiliza as seguintes opções de substratos marcados com  $^{13}\text{C}$ : a [ $^{13}\text{C}$ ]-*Spirulina platensis* ( $^{13}\text{C}$ -SpBT) e o [ $^{13}\text{C}$ ]-ácido octanoico ( $^{13}\text{C}$ -OBT). Estes são adicionados a refeições nutricionalmente balanceadas e ingeridos pelo paciente para a realização do exame (BONFRATE et al., 2015).

Em comparação com a cintilografia, o  $^{13}\text{C}$ -OBT forneceu resultados eficientes na avaliação do GE de fase sólida em humanos. Em sua aplicação, a refeição ingerida pelo paciente deve conter 100 mg deste substrato (BRUNO et al., 2013; CHOI et al., 1997; NGUYEN et al., 2008; NGUYEN et al., 2013; PUNKKINEN et al., 2006). O número de coletas de expiração necessárias não é definido para a realização do  $^{13}\text{C}$ -OBT, mas o método em que 10 amostras são coletadas (basal, 15, 30, 45, 60, 90, 120,

150, 180 e 240 min) pode ser considerado o mais eficiente no diagnóstico de  $T_{1/2}$  rápido (BHARUCHA et al., 2016).

O  $^{13}\text{C}$ -SpBT também apresentou boa eficiência quando comparado à cintilografia, incluindo ainda, a avaliação do GE de fase líquida, que restringe a aplicação do  $^{13}\text{C}$ -OBT. Assim como o  $^{13}\text{C}$ -OBT, a dose de 100 mg do substrato é utilizada para marcar a refeição utilizada no exame e o número de coletas necessárias no processo e a composição da refeição também não são estabelecidos (BHARUCHA et al., 2016; BONFRATE et al. 2015; CHAPMAN et al., 2011; SZARKA et al., 2008; ODUNSI et al., 2009). Entretanto o uso da [ $^{13}\text{C}$ ]-*Spirulina platensis* pode ser restringido por seu alto custo, que pode chegar a oito vezes o valor da mesma dose de [ $^{13}\text{C}$ ]-ácido octanoico. Diante disto, a comparação entre os valores de  $T_{1/2}$  obtidos pelo  $^{13}\text{C}$ -SpBT e pelo  $^{13}\text{C}$ -OBT pode esclarecer quais as grandes diferenças existentes entre eles e quais modificações podem ser feitas para otimizar estes testes.

Desta forma, as hipóteses deste trabalho são que o  $^{13}\text{C}$ -OBT e o  $^{13}\text{C}$ -SpBT possuem a mesma eficiência na avaliação do  $T_{1/2}$  sólidos quanto à cintilografia, e que os protocolos aplicados no processo de aquisição dos resultados por  $^{13}\text{C}$ -GEBT podem ser simplificados. Apontando assim, os objetivos de (1) correlacionar os resultados de  $T_{1/2}$  por  $^{13}\text{C}$ -OBT e  $^{13}\text{C}$ -SpBT com os gerados por cintilografia, utilizando uma refeição sólida de 255kcal e (2) avaliar a metodologia de processamento de dados do  $^{13}\text{C}$ -GEBT e otimizar a aquisição dos resultados.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

Durante o processo de digestão, o trato gastrointestinal fornece ao organismo um suprimento contínuo de água, eletrólitos e nutrientes. Para desempenhar essa função, é necessário: (1) o movimento do alimento ao longo do tubo digestivo, (2) a secreção de sucos digestivos e digestão do alimento, (3) absorção dos produtos digeridos, água e eletrólitos, (4) transporte das substâncias absorvidas pelo sangue e (5) controle de todas essas funções pelo sistema nervoso e hormonal (GUYTON, 2011).

Anormalidades no tempo de duração do GE neste processo podem acarretar complicações clínicas ao paciente como a gastroparesia, uma doença crônica, sintomática, caracterizada pelo GE lento de alimentos sólidos com ou sem líquidos. Os sintomas de gastroparesia são variáveis e incluem náuseas, vômitos, dor abdominal, plenitude pós-prandial, inchaço, saciedade precoce e perda de peso. Diabetes mellitus e vagotomia anterior são consideradas as duas principais causas orgânicas da gastroparesia (KARAMANOLIS et al., 2007; HAUSER et al., 2016). Além disso, o GE lento e a intolerância à alimentação entérica ocorrem em mais de 50% dos pacientes criticamente enfermos (prevalência de até 80%) (NGUYTON et al., 2007; PEREIRA-JR et al., 1998).

Oposto a isso, a síndrome do GE rápido ou Síndrome de Dumping (SD) é classificada como precoce ou tardia. A forma precoce resulta do enchimento rápido do intestino com líquido hipertônico, as manifestações sistêmicas incluem palpitações, taquicardia, fadiga, a necessidade de se deitar após as refeições, rubor ou palidez, sudorese, tontura, hipotensão, dor de cabeça e, possivelmente, síncope. Sintomas abdominais incluem saciedade precoce, plenitude epigástrica ou dor, diarreia, náuseas, cólicas, inchaço e ruídos intestinais. O início da SD precoce começa dentro de 30



minutos após uma refeição e é atribuída a distensão intestinal, hipersecreção hormonal gastrointestinal e desregulação autonômica. Os sintomas podem ser incapacitantes e grave o suficiente causando desnutrição protéico-energética (BHLTHSCI et al., 2015; WANJGARTEN et al., 2007)

A SD tardia é caracterizada por sintomas que ocorrem de 1 a 3 horas após a ingestão de alimento. Neste caso, os principais sintomas consistem em transpiração, fraqueza, diminuição da concentração e níveis alterados de consciência (BERG; MCCALLUM, 2016). Esses sintomas estão relacionados a uma hipoglicemia reativa que ocorre neste período. Frequentemente a SD desenvolve em pacientes submetidos a cirurgias gástricas, podendo atingir 50% dos casos pós-gastrectomias parciais. É provavelmente a mais comum das síndromes pós-gastrectomias (LOSS et al., 2009).

O padrão-ouro para avaliação de anormalidades no tempo de GE (cintilografia) é realizado com a ingestão de uma refeição contendo Sn-<sup>99m</sup>Tc que emite radiação gama ( $\gamma$ ) com 89% de abundância, energia de 140 keV e apresenta meia vida de 6 horas (OLIVEIRA et al., 2006). O equipamento gama câmara detecta a radiação  $\gamma$  emitida pelo Sn-<sup>99m</sup>Tc durante a aquisição da imagem cintilográfica que pode ser estática, dinâmica ou tomográfica (POWSNER; POWSNER, 2006).

Recomendações foram propostas pela Sociedade Americana de Neurogastroenterologia e Motilidade, em conjunto com a Sociedade de Medicina Nuclear, para a realização dos exames de cintilografia de GE por meio de um consenso que propõe a aquisição de imagens estáticas, com duração de um minuto, imediatamente após a ingestão da refeição e, no mínimo, após 1, 2 e 4 horas da ingestão, com o paciente ereto posicionado entre as duas cabeças de detecção da gama câmara. Sendo a refeição composta por um sanduiche, feito com duas fatias de pão branco, omelete de

duas claras e 30 g de geléia de morango, acompanhado por 120 ml de água. O resultado obtido é expresso pela porcentagem de alimento restante no estômago em cada ponto do tempo por meio das contagens gástricas totais ajustadas em relação à primeira imagem, onde todo o alimento ainda está retido no estômago (ABELL et al., 2008).

Ainda que amplamente utilizado, este protocolo apresenta falhas e requer importantes atualizações. Como o número de imagens a serem obtidas, o tempo de duração do exame, o método de aquisição do  $T_{1/2}$  e do tempo de latência ( $T_{lag}$ ) (período em que o bolo alimentar se acomodou no estômago, mas não iniciou o processo de esvaziamento para o intestino) (TRANCON et al., 2006; COUTURIER et al., 2004). Considerando as dificuldades na aquisição de dados padronizados e a obrigatoriedade da ingestão de radiofármaco na cintilografia, o uso de isótopos estáveis para diagnósticos em humanos, surge como uma alternativa inovadora e segura.

Isótopos são elementos que ocupam o mesmo lugar na tabela periódica, pois não diferem em número de prótons ou elétrons no núcleo atômico, mas apresentam diferenças quanto ao número de nêutrons (DUCATTI 2007). Essas características garantem que estes elementos conservem as mesmas propriedades químicas e se diferenciem pelas propriedades físicas. Dentre os isótopos, denominamos de isótopos estáveis os elementos químicos que não sofrem decaimento, ou seja, não perdem massa, não se transformam em outros átomos e não emitem radiação ionizante (EISBERG; RESNICK, 1979; DUCATTI et al., 2011). A razão isotópica é utilizada para mensurar os isótopos estáveis, definida pela razão do isótopo menos abundante, pelo mais abundante na natureza (CHOI et al., 1997; ZANASI et al., 2006)

A utilização de isótopos estáveis como marcadores, além de não restringir a avaliação de pacientes gestantes ou crianças, apresenta grandes vantagens na avaliação

de uma variedade de processos metabólicos e fisiológicos em seres vivos (BRADEN, 2009; D'ANGELO et al., 2013). O teste respiratório com substrato marcado com o isótopo estável Carbono-13 ( $^{13}\text{C}$ -BT, " $^{13}\text{C}$ -Breath Test") é um método de diagnóstico não invasivo, pois analisa apenas amostras de expiração do paciente, podendo ser realizado dentro ou fora de hospitais. A análise isotópica do sopro determina a razão isotópica do carbono no dióxido do carbono ( $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ) da amostra (BRUNO et al., 2013; WYLLIE; HYAMS, 2011). O  $^{13}\text{C}$ -BT consiste na análise isotópica da expiração coletada antes e depois da ingestão de um substrato marcado com  $^{13}\text{C}$ , que revela quantitativamente e qualitativamente processos metabólicos do organismo.

O  $^{13}\text{C}$ -BT pode ser usado para diagnóstico da infecção pelo *Helicobacter pylori*, determinação do tempo de GE sólido ou líquido e do trânsito orocecal, avaliação da função do fígado ou do pâncreas, capacidade de assimilação de carboidratos e verificação do supercrescimento bacteriano. Para cada aplicação podem ser utilizado um ou mais substratos marcados com  $^{13}\text{C}$  (BRADEN, 2009; BRUNO et al., 2013; NGUYEN et al., 2013; PUNKKINEN et al., 2006; PIZZOFERRATO et al., 2013).

Em comparação com a cintilografia, o  $^{13}\text{C}$ -GEBT forneceu resultados eficientes na avaliação do tempo de GE sólido em humanos. Durante sua aplicação o  $^{13}\text{C}$  do substrato é incorporado a refeição e durante o processo de digestão é absorvido pelo intestino delgado/duodeno, metabolizado pelo fígado para  $^{13}\text{CO}_2$  e excretado pelos pulmões na expiração. (BRUNO et al., 2013; CHOI et al., 1997; NGUYEN et al., 2008; NGUYEN et al., 2013; PUNKKINEN et al., 2006; DEANE et al., 2010, GHOOS et al., 1993; BRADEN et al., 2009)

O ácido octanóico, também conhecido como octanoato ou ácido caprílico, é um ácido graxo de cadeia normal, aberta, homogênea e formada por oito carbonos,

naturalmente encontrado no leite materno e em coqueiros. Usualmente, no  $^{13}\text{C}$ -OBT, a refeição contendo 100 mg de [ $^{13}\text{C}$ ]-ácido octanoico que pode ser apresentada ao paciente em diversos tipos de refeições, como um pequeno bolo (muffin), ou um sanduiche de ovos fritos, acompanhado por suco de laranja ou água (BRUNO et al., 2013; CHOI et al., 1997; NGUYEN et al., 2008; NGUYEN et al., 2013; ODUNSI et al., 2009; PUNKKINEN et al., 2006; BROMER et al., 2002).

O número de coletas necessárias durante o  $^{13}\text{C}$ -OBT também não é um consenso, as amostras podem ser obtidas em 45, 90, 120, 150, 180 e 240min após a ingestão da refeição, além das amostras basais obtidas ainda em jejum, ou com menor número de coletas, apenas 6, basal, 45, 90, 120, 180 e 240min após ingestão da refeição. Mas há evidências que o método em que 10 amostras são coletas (basal, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180 e 240min) deve ser o mais detalhado, principalmente para avaliação de GE rápido (BHARUCHA et al., 2016).

A [ $^{13}\text{C}$ ]-*Spirulina platensis* é uma microalga apropriada para o consumo humano que apresenta altos teores de proteínas (64-74%), ácidos graxos poli-insaturados e vitaminas, garantindo seu uso como alimento sem riscos a saúde (COLLA et al., 2007). Para o  $^{13}\text{C}$ -SpBT, a [ $^{13}\text{C}$ ]-*Spirulina platensis* pode ser adicionada a refeições de composição nutricional variada, como uma mistura congelada de ovo desidratado acompanhada por 6 bolachas de água e sal e 180 mL de água, ou ainda adicionada a um sanduiche de claras de ovos (BHARUCHA et al., 2016; BONFRATE et al. 2015; CHAPMAN et al., 2011; SZARKA et al., 2008). Entretanto, assim como o  $^{13}\text{C}$ -OBT, não há um consenso sobre o protocolo de aplicação.

Os equipamentos convencionais para análise de razão isotópica mais utilizados atualmente são: Espectroscopia de Infravermelho de Isótopo Seletivo não Dispersivo –

NDIRS (“*Non - Dispersive, Isotope – Selective Infrared Spectroscopy*”) e o Espectrômetro de Massa de Razão Isotópica – IRMS (“*Isotope Ratio Mass Spectrometer*”). O IRMS apresenta maior sensibilidade e especificidade em suas análises que o NDIRS, mas possui um custo mais elevado (MODAK, 2007).

O IRMS tem a capacidade de medir com precisão as variações na abundância de razão isotópicas de elementos leves, como  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $^2\text{H}/^1\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  e  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ . As proporções destes isótopos são sempre medidas em relação a um padrão isotópico, a fim de eliminar qualquer desvio ou erro sistemático nas medições. Estes padrões são, ou podem ser ligados aos padrões internacionalmente reconhecidos, como Viena Pee Dee Belemnite (VPDB) para o Carbono (MUCCIO; JACKSON, 2009).

No IRMS as razões de isótopos de amostras de interesse são medidas, em per mil (‰), em relação aos padrões universais e são relatados na notação delta,  $\delta$ . O ABCA-IRMS (“*Automated Breath Carbon Analyser*” – IRMS) é um modelo de IRMS específico para análises de  $\text{CO}_2$ . Seu custo é menor que o IRMS convencional e as análises dos sopros para o  $^{13}\text{C}$ -GEBT tornam-se muito mais práticas. Neste equipamento os resultados são fornecidos em “*delta over baseline*” (DOB) que é calculado pela diferença medida na razão  $[^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2]$  entre uma amostra de respiração pós-refeição a qualquer momento  $t$  (minutos) e a amostra de respiração basal (BRADEN, 2009).

### 3. PACIENTES E MÉTODOS

#### 3.1. Delineamento experimental

Para avaliar a eficiência dos substratos utilizados no teste respiratório ( $[^{13}\text{C}]$ -*Spirulina platensis* e  $[^{13}\text{C}]$ -ácido octanoico), este trabalho foi dividido em cinco etapas: (1) recrutamento dos voluntários, (2) aplicação simultânea da cintilografia e do  $^{13}\text{C}$ -SpBT, (3) avaliação da absorção do  $[^{13}\text{C}]$ -ácido octanoico na refeição, (4) aplicação do  $^{13}\text{C}$ -OBT e (5) estudo do processamento de dados do  $^{13}\text{C}$ -GEBT. Este estudo é aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu (processo 1388/2016).

#### 3.2. Pacientes

O recrutamento dos 24 pacientes, idade 28(25-31)\* anos, peso 63(58-68)\* kg e altura 1,62(1,58-1,65)\* metros, foi realizado entre os pacientes encaminhados para realização do exame de cintilografia no Hospital das Clínicas de Botucatu e por divulgação do estudo entre os alunos de graduação e pós-graduação da UNESP, campus de Botucatu. Os critérios de inclusão foram:

- ser do sexo feminino;
- idade entre 18 e 45 anos, em menacme;
- não fumante;
- não apresentar doenças que causem alterações no metabolismo energético (diabetes mellitus, hipotireoidismo, infecção por HIV, neoplasias, cardiopatias, nefropatias e hepatopatias);

\*Expresso em mediana (variação interquartil).

- não estar gestante ou apresentar doenças que causem edema (insuficiência venosa, trombose, sepse, inflamações, linfedemas);
- não consumir medicamentos que causem alterações metabólicas e abortivas: anfetaminas, hormônios tireoidianos, topiramato, orlistat, corticosteróides entre outros;
- não apresentar intolerância ao glúten e/ou alergia a ovo.
- apresentar ciclo menstrual regular;
- não apresentar sintomas de constipação;
- Não apresentar doenças gastrointestinais.

O primeiro contato com as candidatas foi feito por telefone e todas as informações do estudo foram expostas. As que respeitaram os critérios de inclusão e aceitaram participar da pesquisa tiveram o exame de cintilografia agendado no Hospital das Clínicas de Botucatu, considerando o período do ciclo menstrual. Para o dia do exame as pacientes também foram instruídas a realizar jejum (sólido e líquido) por pelo menos 8 horas e sugerido a levar livros, revistas, fones de ouvidos ou outros objetos que as auxiliassem na distração durante os períodos de espera. No dia agendado, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi assinado pelo paciente e uma ficha contendo informações pessoais como endereço, telefone, histórico de doenças/cirurgias, período menstrual, idade, peso, altura e consumo de medicamentos foi preenchida.

### **3.3. Cintilografia e $^{13}\text{C}$ -SpBT**

O exame de cintilografia e o  $^{13}\text{C}$ -SpBT (n=24 pacientes), foram realizados, entre maio e agosto de 2017, simultaneamente por meio da adição de 2mCi (74MBq) de Sn- $^{99\text{m}}\text{Tc}$  e 100 mg de [ $^{13}\text{C}$ ]-*Spirulina plantensis* na refeição padronizada pelo consenso (ABELL et al., 2008) e utilizada no Serviço de Medicina Nuclear do Hospital das

Clínicas de Botucatu que apresenta 255 kcal sendo, 72% de carboidratos, 24% de proteínas, 2% de gordura e 2% de fibras alimentares e constituída por um sanduiche e 120ml de água, sendo o sanduiche composto por duas fatias de pão de forma branco torradas, geleia de morango tradicional (30g) e duas claras de ovos preparadas em frigideira antiaderente, onde foram adicionados o radiofármaco e o substrato. As refeições foram preparadas pelos profissionais que atuam no Serviço de Medicina Nuclear do hospital respeitando todas as exigências de segurança e proteção radiológica.

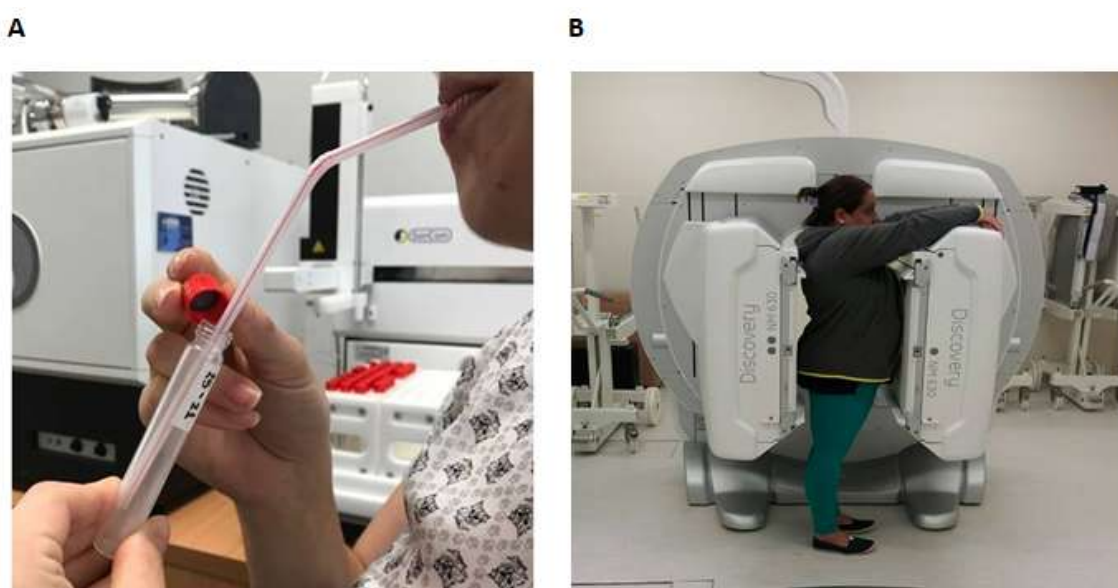
Com a paciente já acomodada em uma sala de espera apropriada, dentro do serviço de medicina nuclear, o primeiro passo do processo foi coletar, com o auxílio de um canudo, a amostra de expiração basal (com o paciente ainda em jejum) em tubos de vidro de 12 ml etiquetados e com fechamento com tampa de rosca, como exemplificado na Figura 1A. Em seguida, a refeição foi entregue e a paciente foi instruída a realizar a ingestão completa em no máximo 10 minutos. O horário referente ao término da refeição foi marcado e outra coleta de expiração foi realizada.

A primeira imagem cintilográfica também foi realizada imediatamente ao término da refeição (tempo zero) com a paciente na posição ereta e imóvel entre os colimadores da gama câmara da marca General Electric, modelo Discovery NM 630, com dois detectores retangulares, como mostra a Figura 1B. Outras três imagens cintilográficas foram adquiridas em 1h, 2h e 4h, a partir do horário de término da refeição e todas tiveram duração de aquisição de 1 minuto. A composição nutricional da refeição utilizada, sua forma de preparo, o posicionamento do paciente e os intervalos de aquisição das imagens cintilográficas seguiram o protocolo preconizado por Abell et al., (ABELL et al., 2008).

As amostras de expiração coletadas após o consumo da refeição foram feitas em intervalos de 15 minutos durante 1h, nas duas horas seguintes os intervalos de coletas



foram de 30 minutos e as últimas coletas foram feitas no final do procedimento, 4h após o termino da refeição. Todas as coletas foram feitas em duplicata para minimizar as chances de erro com 10 coletas nos seguintes intervalos: 0; 15; 30; 45; 60; 90; 120; 150; 180; 240min, conforme (BHARUCHA et al., 2016). Ao termino do procedimento, os tubos foram para o Centro de Isótopos Estáveis “Prof. Dr. Carlos Ducatti” da UNESP de Botucatu, onde as amostras de expiração foram analisadas por um ABCA-IRMS da marca Sercon.



**Figura 1.** Em A, imagem representando o momento da coleta de expiração, com o auxílio de um canudo, em um tubo de vidro etiquetado de 12 ml, durante o  $^{13}\text{C}$ -BT. Em B, foto obtida durante a aquisição de uma imagem cintilográfica com a paciente posicionada ereta e imóvel entre os colimadores de uma gama câmara.

### 3.4. $^{13}\text{C}$ -OBT

Para a aplicação do  $^{13}\text{C}$ -OBT e correlação com a cintilografia, primeiro foi necessário avaliar a absorção do  $^{13}\text{C}$ -ácido octanoico pelo intestino delgado em três diferentes refeições. A primeira apresentava a mesma composição nutricional da refeição padronizada utilizada nos exames de cintilografia e no  $^{13}\text{C}$ -SpBT, a segunda

refeição foi feita mantendo todos os componentes da refeição padronizada, mas com o acréscimo de uma gema de ovo e a terceira composição nutricional foi feita adicionando uma gema de ovo à refeição padronizada e substituindo as 30 g de geléia de morango por 10 g de margarina tradicional.

A refeição utilizada foi composta por 288 kcal sendo 48% de carboidratos, 23% de proteína, 26% de gordura e 2% de fibras alimentares apresentadas em 120 ml de água e um sanduíche feito com duas fatias de pão branco torradas, 10 g de margarina tradicional e duas claras mais uma gema de ovo. No preparo da refeição 100 mg de [ $^{13}\text{C}$ ]-ácido octanoico foi acrescentada a gema de ovo que foi cozida separada das claras em frigideira antiaderente. Todas as refeições foram preparadas pela mesma pessoa.

As coletas de expiração para a realização do  $^{13}\text{C}$ -OBT foram agendadas pelo menos uma semana após a realização do  $^{13}\text{C}$ -SpBT e todos os procedimentos foram desenvolvidos no Centro de Isótopos Estáveis “Prof. Dr. Carlos Ducatti” da UNESP campus de Botucatu entre maio e setembro de 2017. Para o agendamento do  $^{13}\text{C}$ -OBT o período do ciclo menstrual da paciente também foi considerado e as recomendações que antecederam ao exame foram às mesmas utilizadas no agendamento da cintilografia. O número de coletas de expiração, assim como os intervalos de tempo entre elas, seguiu os mesmos procedimentos utilizados no  $^{13}\text{C}$ -SpBT com exceção do substrato e refeição. Realizaram o  $^{13}\text{C}$ -OBT 20 pacientes, pois 4 dos 24 iniciais, optaram por não continuar participando do estudo.

### **3.5. Processamento dos dados**

#### *3.5.1. Cintilografia de esvaziamento gástrico de fase sólida*

O protocolo utilizado nos exames de cintilografia de GE sólido no Serviço de Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas de Botucatu desde 2009 é conforme (ABELL et al., 2008) e o fármaco Estanho coloidal é disponibilizado em kits provenientes do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares de São Paulo e marcado com  $^{99m}\text{Tc}$  no Serviço de Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas de Botucatu, seguindo protocolo padrão de acordo com o fabricante, juntamente com o controle de qualidade.

O protocolo de aquisição utiliza imagens estáticas nas projeções anterior e posterior com o paciente sentado ou em posição ortostática, com colimadores de baixa energia e alta resolução, fotopico de 140 keV, janela de 15%, matriz 256x256, sem magnificação e com duração de 1 minuto.

O processamento das imagens foi realizado desenhando os contornos do estômago, denominada região de interesse, nas imagens de projeção anterior e posterior para cada período de tempo e as contagens obtidas para cada anterior e posterior foram multiplicadas e a raiz quadrada deste produto forneceu a média geométrica da cintilografia que foi corrigida pelo decaimento radioativo do  $^{99m}\text{Tc}$ .

O valor da média geométrica em cada momento  $t$  correspondem à proporção de contagem remanescente no estômago naquele momento. Subtraindo o valor de contagem num momento  $t$  do valor de contagem inicial ( $t=0$ ) identificamos a proporção do conteúdo esvaziado do estômago naquele momento ( $t$ ). Desta forma, o tempo de meio esvaziamento gástrico,  $T_{(1/2)}$  dado em minutos, para cada sujeito é o momento em que o valor de contagem inicial é reduzido à metade e esse valor pode ser estimado por interpolação linear (LAWRENCE et al., 2009; ABELL et al., 2008; LEE et al., 2000; BHARUCHA et al., 2016).

### 3.5.2. Teste respiratório para esvaziamento gástrico de fase sólida com [ $^{13}\text{C}$ ]-*Spirulina plantensis* ( $^{13}\text{C}$ -SpBT)

As amostras de expiração coletadas de um paciente ao longo do tempo, ao serem analisadas pelo ABCA-IRMS, fornecem uma curva de *turnover* isotópico. No IRMS, a análise segue as seguintes etapas: introdução do gás (amostra); ionização eletrônica; separação dos íons por um campo electromagnético em função da massa/carga; detecção dos íons de massa diferente pelo multicoletor constituído por “Faraday cups”; produção de um sinal elétrico. A alteração de trajetória e a detecção de íons de massa diferente são possíveis, pois a diferença de massa entre os isótopos fornece trajetórias diferentes (MUCCIO; GLEN, 2008; BRADEN, 2009).

Os valores obtidos pelo software do ABCA-IRMS após a análise das amostras são dado pelo enriquecimento relativo isotópico ( $\delta^{13}\text{C}$ ) em cada tempo de coleta. O  $\delta^{13}\text{C}$ , dado em per mil (‰), é resultado da razão entre os valores da razão isotópica de cada amostra coletada ( $R_{\text{amostra}}$ ) pela razão isotópica do padrão internacional utilizado para carbono, o “Pee Dee Belmnite” (PDB), igual à 0,0112372. Onde a razão isotópica é dada pela razão entre o elemento naturalmente menos abundante e o elemento mais abundante ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ), como mostra a equação 1.

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \left( \frac{R_{\text{amostra}}}{R_{\text{PDB}}} - 1 \right) \times 1000 \quad (1)$$

A partir dos dados de  $\delta^{13}\text{C}$ , calculamos a grandeza internacional para teste respiratório, o DOB dada pela diferença entre o  $\delta^{13}\text{C}$  de uma amostra de respiração pós-refeição, a qualquer momento  $t$  (minutos), e a amostra de respiração basal coletada ainda em jejum (equação 2).

$$DOB(\%) = \delta^{13}C_{amostra} - \delta^{13}C_{basal} \quad (2)$$

Para analisarmos o processo de esvaziamento gástrico consideramos a taxa metabólica basal (“basal metabolic rate” - BMR) de cada indivíduo por meio de equações propostas por Schofield, descritas na Tabela 1, que utiliza idade, sexo, altura e peso do paciente (SCHOFIELD, 1985). Os valores de BMR obtidos em MJ/dia foram transformados para BMR em kcal/dia ao serem multiplicados por 239 e o gasto energético diário (“*Energy Expenditure*” - EE), é calculado considerando o BMR e o fator atividade, este fator é estabelecido de acordo com grau de atividades físicas diárias do indivíduo, mas frequentemente é considerado igual a 1,4 (equação 3). A partir do valor de EE, estimamos o volume de CO<sub>2</sub> expirado (V<sub>CO2</sub>), por dia, para cada paciente, como mostra a equação 4 e, finalmente a taxa de produção de CO<sub>2</sub> do indivíduo (CO<sub>2</sub>PR) por meio da equação 5.

$$EE(\text{kcal/dia}) = 1,4 \times \text{BMR} (\text{kcal/dia}) \quad (3)$$

$$V_{CO_2}(\text{molCO}_2/\text{dia}) = \frac{(EE)}{134,25} \quad (4)$$

$$CO_2PR(\text{mmolCO}_2/\text{min}) = \frac{V_{CO_2}}{24 \times 60} \times 1000 \quad (5)$$

O resultado do <sup>13</sup>C-SpBT utilizado é a porcentagem de dose de <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> excretado na expiração (<sup>13</sup>C\_PCD) no tempo t após o consumo da refeição, mas para fornecer uma escala numérica mais conveniente, o <sup>13</sup>C\_PCD é multiplicado por

1000, produzindo o <sup>13</sup>C\_kPCD, como mostra a equação 6 (BHARUCHA et al., 2016; SZARKA et al., 2008; BHARUCHA et al., 2015; LEE et al., 2000).

$$^{13}C\_kPCD(\%) = \left( \frac{DOB \times CO_2PR \times R_{PDB} \times 13}{10 \times \text{dose}} \right) \times 1000 \quad (6)$$

Sendo,

- DOB = Grandeza internacional para teste respiratório;
- CO2PR = Taxa de produção de CO<sub>2</sub>;
- R<sub>PDB</sub> = 0,0112372;
- 13 = O peso atômico do carbono-13;
- 10 = Constante de conversão;
- Dose = A dose é o peso (mg) de carbono-13 dada ao paciente. Como 43% do peso da [<sup>13</sup>C]-*Spirulina platensis* é de <sup>13</sup>C e a dose de [<sup>13</sup>C]-*Spirulina platensis* dada ao paciente é de 100 mg, temos uma dose de <sup>13</sup>C igual a 43 mg.

**Tabela 1.** Equações propostas por Schofield, em 1985, para estimativa a taxa metabólica basal (BMR) em MJ/dia, considerando idade, sexo, peso e altura de cada indivíduo (SCHOFIELD, 1985).

|                                     |                                  |
|-------------------------------------|----------------------------------|
| <b>Idade &lt; 3 anos</b>            |                                  |
| Masculino                           | BMR = 0,0007×P + 6,349×A – 2,584 |
| Feminino                            | BMR = 0,068×P + 4,281×A – 1,730  |
| <b>3 anos ≤ Idade &lt; 10 anos</b>  |                                  |
| Masculino                           | BMR = 0,082×P + 0,545×A + 1,736  |
| Feminino                            | BMR = 0,071×P + 0,677×A + 1,553  |
| <b>10 anos ≤ Idade &lt; 18 anos</b> |                                  |
| Masculino                           | BMR = 0,068×P + 0,574×A + 2,157  |
| Feminino                            | BMR = 0,035×P + 1,948×A + 0,837  |
| <b>18 anos ≤ Idade &lt; 30 anos</b> |                                  |
| Masculino                           | BMR = 0,068×P – 0,042×A + 2,953  |
| Feminino                            | BMR = 0,057×P + 1,184×A + 0,411  |
| <b>30 anos ≤ Idade &lt; 60 anos</b> |                                  |
| Masculino                           | BMR = 0,048×P – 0,011×A + 3,670  |
| Feminino                            | BMR = 0,034×P + 0,006×A + 3,530  |
| <b>60 anos ≤ Idade</b>              |                                  |
| Masculino                           | BMR = 0,038×P + 4,068×A – 3,491  |
| Feminino                            | BMR = 0,033×P + 1,917×A + 0,074  |

P = peso em quilogramas (kg).  
A = altura em metros (m).

O *turnover* do <sup>13</sup>C é resultados do enriquecimento relativo de carbono (δ<sup>13</sup>C) em função do tempo t após a ingestão do substrato marcado com <sup>13</sup>C, sendo assim, o

*turnover* adquirido pelo cálculo de  $^{13}\text{C\_kPCD}$ , em função do tempo, em minutos, representa a porcentagem de dose de  $^{13}\text{C}$  excretada pela expiração com o passar do tempo, considerando o metabolismo de cada paciente (LEE et al., 2000; LAWRENCE et al., 2009; BHARUCHA, 2009; SZARKA et al., 2008).

A partir dos valores de  $^{13}\text{C\_kPCD}$  e dos momentos (t) em que as coletas foram obtidas, o  $T_{1/2}(\text{min})$  de cada paciente foi calculado por interpolação linear simples. Entretanto, dois testes foram realizados neste momento, o primeiro foi efetuado calculando o valor de  $T_{1/2}$  utilizando todas as amostras coletadas durante o  $^{13}\text{C-SpBT}$ , totalizando 10 pontos nas curvas de  $^{13}\text{C\_kPCD}$ , já que as coletas foram feitas em 10 momentos distintos após a ingestão da refeição. O segundo teste foi realizado para aquisição de  $T_{1/2}$  mais compatíveis com a metodologia utilizada na cintilografia, utilizando apenas as coletas que coincidiram com a aquisição das imagens cintilográficas, ou seja, em 0, 1, 2 e 4 horas após a ingestão da refeição, totalizando 4 pontos na curva de  $^{13}\text{C\_kPCD}$ .

Para o estudo de otimização de processamento de dados, a interpolação linear simples para cálculo de  $T_{1/2}$  por  $^{13}\text{C-SpBT}$  foi realizada de duas formas, uma considerando apenas os valores de DOB obtidos na análise das amostras de expiração em função do tempo, e outra pelos dados resultantes do processo de cálculo de  $^{13}\text{C\_kPCD}$ .

### 3.5.3. *Teste respiratório de esvaziamento gástrico de fase sólida com [ $^{13}\text{C}$ ]-ácido octanoico ( $^{13}\text{C-OBT}$ )*

No  $^{13}\text{C-OBT}$  os valores de DOB e  $\text{CO}_2\text{PR}$  foram obtidos pelos mesmos processos utilizados no  $^{13}\text{C-SpBT}$ . Entretanto, Para a aquisição do *turnover* do  $^{13}\text{C}$  no  $^{13}\text{C-OBT}$ , a grandeza utilizada é a Porcentagem de Dose Recuperada de  $^{13}\text{CO}_2$

( $^{13}\text{C\_PDR}$ ) que, posteriormente, deve considerar os tempo de coletas para a gerar a  $^{13}\text{C\_PDR}$  com efeito acumulativo ( $^{13}\text{C\_cPDR}$ ).As equações 7 e 8 mostram como a  $^{13}\text{C\_PDR}$  e a  $^{13}\text{C\_cPDR}$  são calculadas (CHOI et al., 1997; NGUYEN et al., 2013; BRUNO et al., 2013; GHOOS et al., 1993; MAES et al., 2017).

$$^{13}\text{C\_PDR} = \frac{DOB \times R_{PDB} \times 10^{-3} \times CO_2PR}{\frac{m}{MW} \times n \times \frac{E}{100}} \times 10^2 \quad (7)$$

$$^{13}\text{C\_cPDR} = \int_{T=0}^{T=t} (^{13}\text{C\_PDR}) dT \quad (8)$$

sendo,

- DOB: delta over baseline;
- $R_{PDB} = 0,0112372$ ;
- $CO_2PR$ : taxa de produção de  $CO_2$ ;
- m: quantidade, em massa, de substrato administrado (100 mg);
- MW: peso molecular do substrato (74u);
- n: número de átomos de  $^{13}\text{C}$  na molécula do substrato (1);
- E: enriquecimento isotópico de  $^{13}\text{C}$  (99%).

As curvas do *turnover* adquirido pela  $^{13}\text{C\_cPDR}$ , em função do tempo t(h), foram geradas e a equação exponencial não linear de Chapman (equação 9) foi utilizada para normalização da curva e obtenção das constantes m, k e  $\beta$  utilizadas na aquisição do valor de  $T_{1/2}$ (min) para cada paciente como descrito na equação 10 (CHOI et al., 1997; NGUYEN et al., 2013; BRUNO et al., 2013).

$$Y = m \times (1 - e^{-kt})^\beta \quad (9)$$

Onde, m é a assíntota superior (valor máximo de Y), k é a velocidade de crescimento da curva e  $\beta$  representa o ponto de inflexão da curva.



$$T_{1/2}(\text{min}) = \left(\frac{-1}{k} \times \ln(1 - 2^{-1/\beta})\right) \times 60 \quad (10)$$

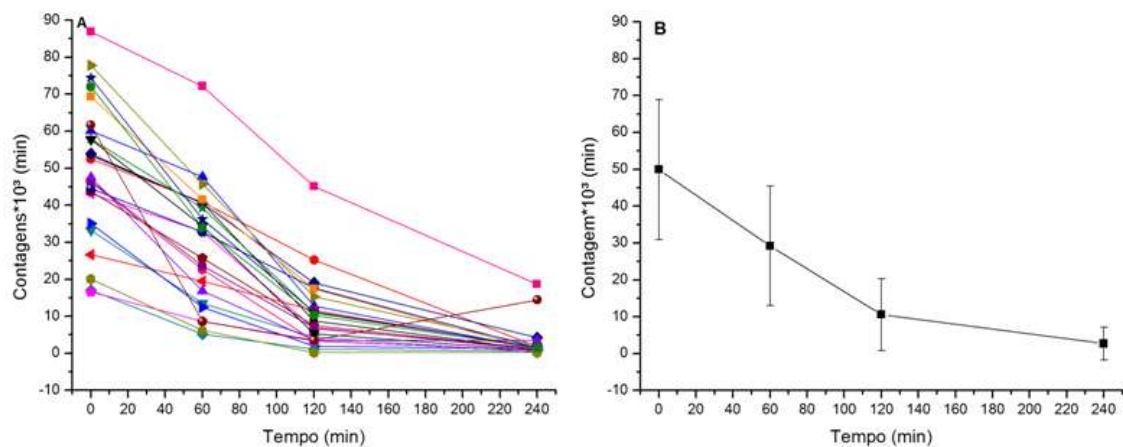
No estudo do processamento de dados, a equação de normalização de Chapman (equação 10) foi aplicada considerando apenas os valores de DOB obtidos na análise das amostras de expiração em função do tempo. Os valores de DOB gerados por  $^{13}\text{C}$ -OBT foram integrados, em relação ao tempo, para obtenção de cDOB, ou seja, DOB com efeito acumulativo. A integral utilizada neste momento foi a mesma expressa pela equação 9, alterando apenas os valores de  $^{13}\text{C}$ \_PDR para DOB.

### 3.6. Análise Estatística

Para verificar a correlação entre os valores de  $T_{1/2}$  obtidos por cada técnica foi utilizado o coeficiente de correlação linear de Pearson ( $r$ ). Testes de tendência, homogeneidade e independência foram feitos por ANOVA para dados paramétricos com grau de significância de 95%, considerando não significativo valor de  $p < 0,05$ . A ausência de valores discrepantes (Outliers) foi considerada em valores entre -3 e +3. Para auto correlação de erros/resíduos foi usado Dubin-Watson onde resíduos independentes são observados em valores entre 1,5 e 2,5. As análises estatísticas foram feitas pelo programa computacional IBM SPSS Statistics, versão 21, os gráficos apresentados foram gerados no programa OriginPro, versão 8, e os cálculos de média e desvio-padrão foram feitos pelo programa Microsoft Excel, versão 2007.

#### 4. RESULTADOS

A Figura 2 mostra as curvas de contagem, que foram multiplicadas por  $10^3$  para melhor visualização, em função do tempo, em minutos, dos 24 pacientes que realizaram o exame de cintilografia, assim como o valor de contagem médio para cada momento  $t$  e seu respectivo desvio-padrão. Os valores de BMR, EE,  $VCO_2$  e  $CO_2PR$  de cada paciente submetido ao  $^{13}C$ -GEBT para GE sólido ( $n=24$ ) estão contidos na Tabela 2.



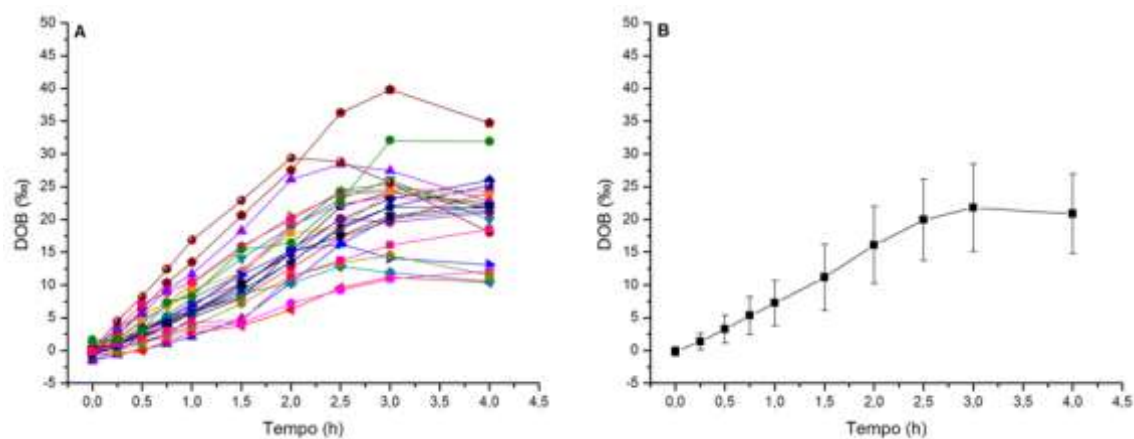
**Figura 2.** Curvas de contagem\* $10^3$ , em função do tempo, de 24 pacientes submetidos à cintilografia de GE sólido. Em A, as curvas representam o resultado de cada paciente e em B, a curva corresponde às médias de contagem\* $10^3$  para cada tempo de coleta com barras verticais indicando o desvio-padrão.

Os resultados de DOB por  $^{13}C$ -SpBT estão contidos nas curvas de DOB em função do tempo, bem como valores médios e desvios-padrões calculados dos valores de DOB em função do tempo, estão expostos na Figura 3. Resultados de  $^{13}C$ \_kPCD estão representados na Figura 4 como curvas de  $^{13}C$ \_kPCD, em função do tempo, para cada paciente ( $n=24$ ). Ainda nesta figura, estão os valores de média e desvio-padrão calculados em função do tempo.

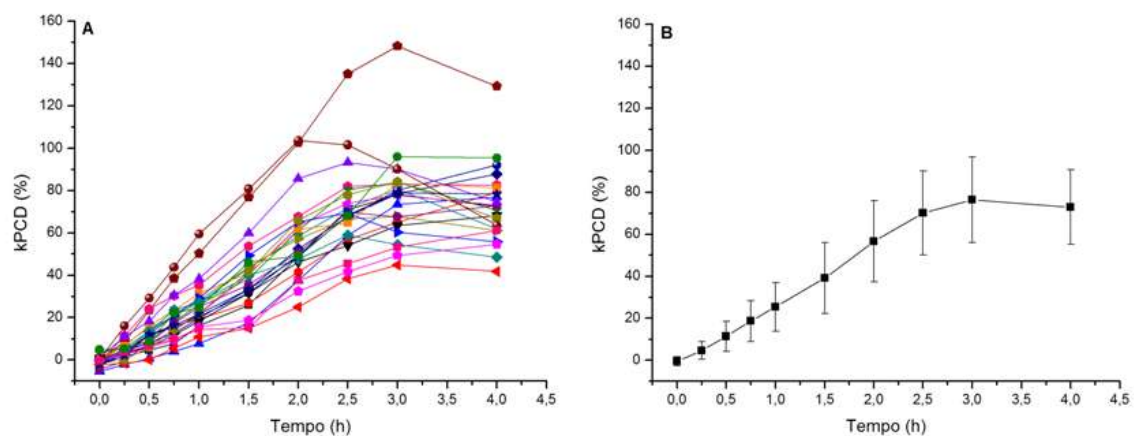
**Tabela 2.** Valores de Taxa Metabólica Basal – BMR(MJ/dia), Gasto energético – EE(kcal/dia), Volume de CO<sub>2</sub> expirado - VCO<sub>2</sub>(molCO<sub>2</sub>/dia) e Taxa de produção de CO<sub>2</sub> - CO<sub>2</sub>PR(mmolCO<sub>2</sub>/dia) calculados para 24 pacientes do sexo feminino.

| <b>Paciente</b> | <b>BMR<br/>(MJ/dia)</b> | <b>EE<br/>(kcal/dia)</b> | <b>VCO<sub>2</sub><br/>(molCO<sub>2</sub>/dia)</b> | <b>CO<sub>2</sub>PR<br/>(mmolCO<sub>2</sub>/min)</b> |
|-----------------|-------------------------|--------------------------|--|--|
| 1               | 5,50                    | 1838,69                  | 13,70  | 9,51   |
| 2               | 5,58                    | 1866,99                  | 13,91  | 9,66   |
| 3               | 6,13                    | 2052,16                  | 15,29  | 10,62  |
| 4               | 5,27                    | 1762,41                  | 13,13  | 9,12   |
| 5               | 5,64                    | 1885,50                  | 14,04  | 9,75   |
| 6               | 4,75                    | 1590,02                  | 11,84  | 8,22   |
| 7               | 5,75                    | 1923,84                  | 14,33  | 9,95   |
| 8               | 6,33                    | 2117,45                  | 15,77  | 10,95  |
| 9               | 5,75                    | 1923,02                  | 14,32  | 9,95   |
| 10              | 5,59                    | 1870,39                  | 13,93  | 9,68   |
| 11              | 6,21                    | 2076,52                  | 15,47  | 10,74  |
| 12              | 5,84                    | 1954,60                  | 14,56  | 10,11  |
| 13              | 5,87                    | 1965,01                  | 14,64  | 10,16  |
| 14              | 5,58                    | 1866,97                  | 13,91  | 9,66   |
| 15              | 5,24                    | 1753,09                  | 13,06  | 9,07   |
| 16              | 6,79                    | 2270,70                  | 16,91  | 11,75  |
| 17              | 7,25                    | 2424,48                  | 18,06  | 12,54  |
| 18              | 7,79                    | 2606,58                  | 19,42  | 13,48  |
| 19              | 7,64                    | 2555,27                  | 19,03  | 13,22  |
| 20              | 9,86                    | 3298,31                  | 24,57  | 17,06  |
| 21              | 6,13                    | 2052,45                  | 15,29  | 10,62  |
| 22              | 5,99                    | 2003,16                  | 14,92  | 10,36  |
| 23              | 5,62                    | 1881,54                  | 14,02  | 9,73   |
| 24              | 5,09                    | 1701,96                  | 12,68  | 8,80   |

Os resultados dos 20 pacientes submetidos ao  $^{13}\text{C}$ -OBT estão contidos na Figura 5 pelas curvas de DOB, em função do tempo, com média e desvios-padrão calculados também em função do tempo. Resultados obtidos de  $^{13}\text{C}$ \_PDR, multiplicados por  $10^2$  para melhor visualização, destes mesmos pacientes, são mostrados na Figura 6 com valores de média e desvio-padrão calculados em função do tempo.

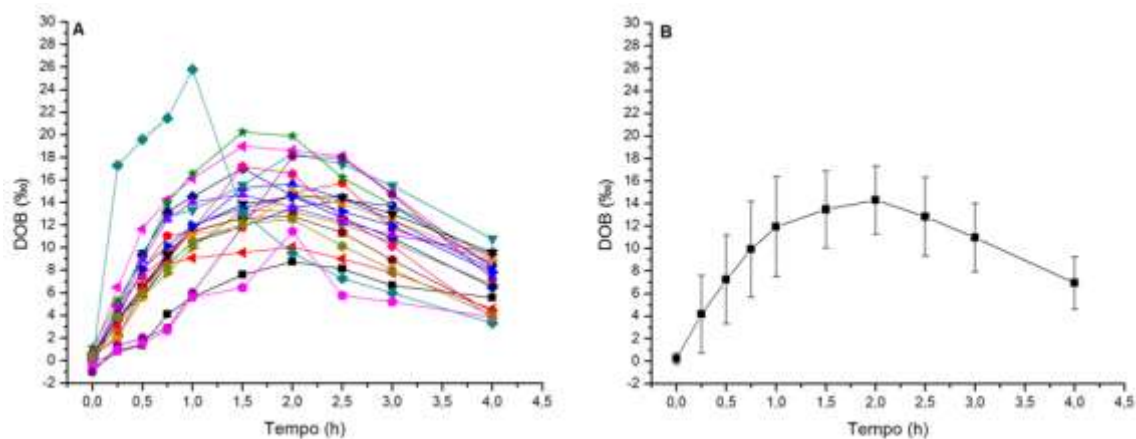


**Figura 3.** Resultados de DOB por  $^{13}\text{C}$ -SpBT de 24 pacientes. Em A, as curvas de DOB em função do tempo para cada um dos pacientes e em B o valor médio de DOB para cada momento  $t$  e seu respectivo desvio-padrão.

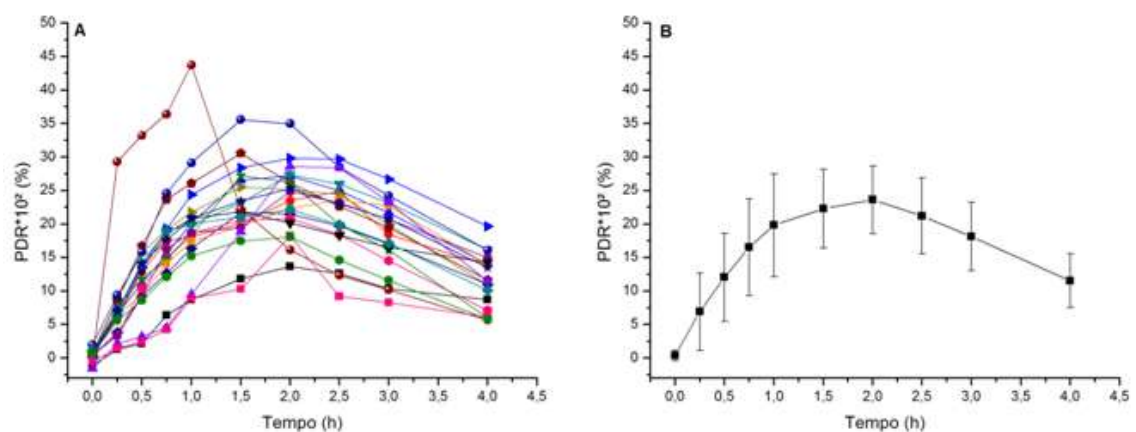


**Figura 4.** Resultados do  $^{13}\text{C}$ -SpBT de 24 pacientes, representados em A pelas curvas de  $^{13}\text{C}$ \_kPCD em função do tempo para cada paciente e em B pela média dos valores de  $^{13}\text{C}$ \_kPCD em cada momento  $t$  e seu desvio-padrão (barras verticais).

Na Tabela 3 estão disponíveis os valores de  $T_{1/2}$ (min) calculados por  $^{13}\text{C}$ -OBT, cintilografia,  $^{13}\text{C}$ -SpBT para 4 pontos e  $^{13}\text{C}$ -SpBT para 10 pontos, assim como as diferenças, em porcentagem, dos dois valores de  $T_{1/2}$  obtidos por  $^{13}\text{C}$ -SpBT. Estão dispostos ainda os valores de média e desvio-padrão.

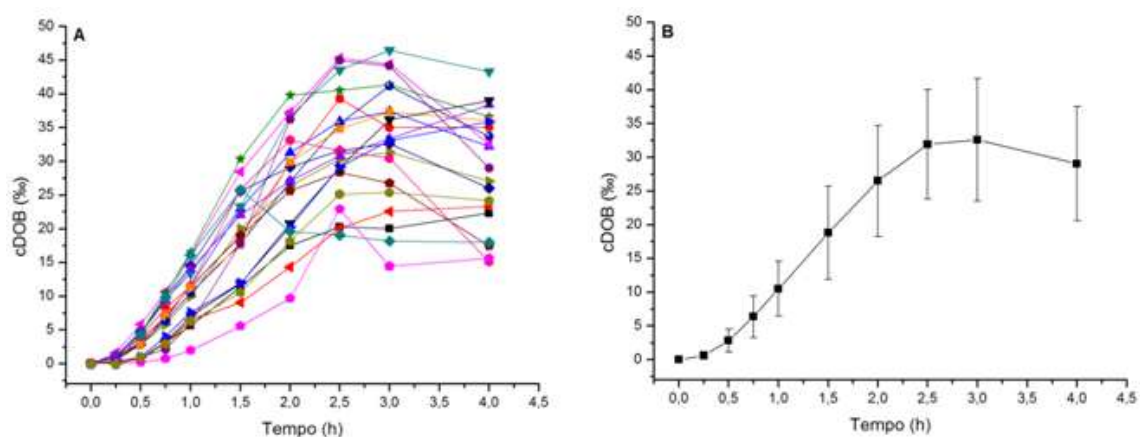


**Figura 5.** Resultados de DOB por  $^{13}\text{C}$ -OBT de 20 pacientes. Em A, as curvas de DOB em função do tempo para cada um dos pacientes e em B o valor médio de DOB para cada momento t e seu respectivo desvio-padrão (barras verticais).

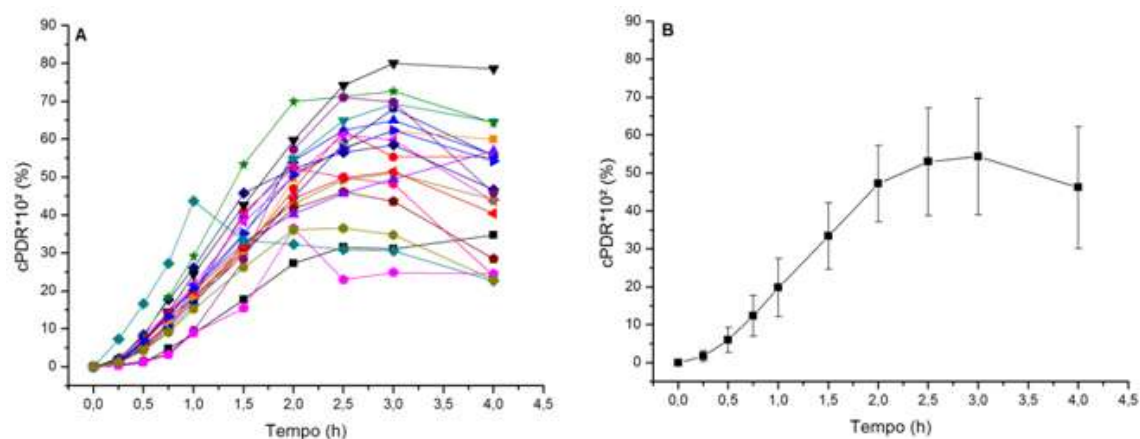


**Figura 6.** Resultados do  $^{13}\text{C}$ -OBT de 20 pacientes, representados em A pelas curvas de  $^{13}\text{C\_PDR} \cdot 10^2$  em função do tempo para cada paciente e em B pela média dos valores de  $^{13}\text{C\_PDR} \cdot 10^2$  em cada momento t e seu desvio-padrão, mostrado pelas barras verticais.

Os valores de DOB obtidos por  $^{13}\text{C}$ -OBT e integrados em função do tempo, expressos como cDOB podem ser vistos pelas curvas da Figura 7, assim como os valores das médias calculadas em cada tempo de coleta e seus respectivos desvios-padrões. A Figura 8 mostra os resultados de  $^{13}\text{C}$ -cPDR\* $10^2$  dos 20 pacientes submetidos ao  $^{13}\text{C}$ -OBT, seus valores de média e desvio-padrão, em função do tempo, também estão contidos nesta figura.



**Figura 7.** Resultados de cDOB por  $^{13}\text{C}$ -OBT de 21 pacientes. Em A as curvas de cDOB em função do tempo para cada um dos pacientes e em B o valor médio de cDOB para cada momento do tempo e seu respectivo desvio-padrão.



**Figura 8.** Resultados obtidos por  $^{13}\text{C}$ -OBT, de 20 pacientes, representados, em A, pelas curvas de  $^{13}\text{C}$ \_cPDR\* $10^2$  em função do tempo para cada paciente e em B pela média

dos valores de  $^{13}\text{C}_{\text{-cPDR}} \cdot 10^2$  em cada momento  $t$  e seu desvio-padrão, mostrado pelas barras verticais.

**Tabela 3.** Resultado dos valores de  $T_{1/2}(\text{min})$  calculados por  $^{13}\text{C}$ -OBT, cintilografia,  $^{13}\text{C}$ -SpBT com 4 pontos,  $^{13}\text{C}$ -SpBT com 10 pontos e a diferença (%) entre os  $T_{1/2}$  calculados por  $^{13}\text{C}$ -SpBT, além dos valores de média e desvio-padrão.

| Paciente | $T_{1/2}(\text{min})$ |               |                       |           |               |
|----------|-----------------------|---------------|-----------------------|-----------|---------------|
|          | $^{13}\text{C}$ -OBT  | Cintilografia | $^{13}\text{C}$ -SpBT |           |               |
|          |                       |               | 4 Pontos              | 10 Pontos | Diferença (%) |
| 1        | 85,24                 | 92,53         | 96,45                 | 106,97    | 9,83          |
| 2        | 79,29                 | 116,18        | 115,13                | 116,30    | 1,01          |
| 3        | 72,83                 | 94,74         | 122,91                | 121,36    | -1,28         |
| 4        | 82,24                 | 57,08         | 67,36                 | 84,30     | 20,09         |
| 5        | *                     | 88,08         | 81,34                 | 87,83     | 7,39          |
| 6        | 104,28                | 76,55         | 64,78                 | 70,96     | 8,71          |
| 7        | 71,36                 | 100,38        | 104,44                | 106,62    | 2,04          |
| 8        | 65,40                 | 75,86         | 76,56                 | 87,00     | 12            |
| 9        | 59,64                 | 63,78         | 70,86                 | 70,06     | -1,14         |
| 10       | 59,12                 | 83,73         | 75,82                 | 94,54     | 19,8          |
| 11       | 63,49                 | 102,58        | 112,51                | 113,93    | 1,25          |
| 12       | 86,89                 | 79,97         | 78,29                 | 90,88     | 13,85         |
| 13       | 85,08                 | 65,26         | 86,62                 | 91,74     | 5,58          |
| 14       | 90,00                 | 48,87         | 58,67                 | 71,57     | 18,02         |
| 15       | 84,31                 | 74,48         | 93,90                 | 94,98     | 1,14          |
| 16       | *                     | 107,93        | 102,69                | 112,50    | 8,72          |
| 17       | 85,21                 | 48,08         | 57,57                 | 68,27     | 15,67         |
| 18       | 127,96                | 45,1          | 53,43                 | 65,36     | 18,25         |
| 19       | *                     | 66,12         | 101,58                | 108,79    | 6,63          |
| 20       | *                     | 45,49         | 75,69                 | 90,29     | 16,17         |
| 21       | 73,76                 | 62,34         | 98,88                 | 101,87    | 2,94          |
| 22       | 21,22                 | 36,61         | 52,22                 | 52,70     | 0,91          |
| 23       | 70,25                 | 128,19        | 101,97                | 110,66    | 7,85          |
| 24       | 58,72                 | 60,61         | 116,47                | 108,64    | -7,21         |
| Média    | 76,31                 | 75,86         | 86,09                 | 92,84     | 7,84          |
| Dp**     | 20,99                 | 24,33         | 21,33                 | 18,72     | 7,61          |

\* Paciente não realizou o teste.

\*\* Desvio-padrão.

## 5. DISCUSSÃO

Este estudo partiu da hipótese que o  $^{13}\text{C}$ -OBT e o  $^{13}\text{C}$ -SpBT apresentam eficiência equivalente a cintilografia, método padrão-ouro, para avaliar o processo de GE de uma refeição sólida. Neste contexto, a composição nutricional da refeição ingerida pelo paciente durante o processo de avaliação é um fator de extrema importância, já que a digestão e absorção são dependentes do valor energético e dos nutrientes contidos no alimento ingerido. Carboidratos e proteínas iniciam o processo de degradação por enzimas presentes na mucosa bucal e no estômago, lipídeos (gorduras) por sua vez, precisam ser emulsificados por sais biliares produzidos pela vesícula biliar e liberados no duodeno durante o processo de digestão. Assim, o aumento da concentração de gordura na refeição utilizada para avaliação do GE interfere no tempo em que esse processo ocorre (LIN et al., 1999; GUYTON, 2011).

O [ $^{13}\text{C}$ ]-ácido octanoico requer maior teor de gordura na composição nutricional da refeição para que possa ser diluído, pois se trata de um ácido graxo (lipossolúveis), formado por moléculas apolares fracamente solúveis em soluções polares, (LEHNINGER et al., 2007). Por este motivo, a refeição padronizada utilizada nos exames de cintilografia e no  $^{13}\text{C}$ -SpBT, construída apenas por 2% de gordura, não pôde ser aplicada ao  $^{13}\text{C}$ -OBT, assim como a refeição feita com o acréscimo de uma gema de ovo (5 g de gordura) à composição nutricional da refeição padronizada não foi suficiente para a absorção adequada do substrato, o que resultou na baixa concentração de  $^{13}\text{C}$  nas amostras. Já a troca das 30 g de geléia de morango por 10 g de margarina (8 g de gordura), e mantendo o acréscimo da gema de ovo, alcançando 14,5 g de gordura (26%) na composição nutricional da refeição, resultando em valores mais altos de  $\delta^{13}\text{C}$  nas amostras de expiração que possibilitaram a aplicação do  $^{13}\text{C}$ -OBT (BRUNO et al.,



2013; CHOI et al., 1997; NGUYEN et al., 2008; NGUYEN et al., 2013; PUNKKINEN et al., 2006; BROMER et al., 2002).

Para o  $^{13}\text{C}$ -SpBT a composição nutricional da refeição não interfere em sua absorção, pois o conteúdo das células da alga [ $^{13}\text{C}$ ]-*Spirulina platensis*, rica em proteína e hidratos de carbono, é facilmente incorporada à refeição na qual é adicionada (BHARUCHA et al., 2016; BONFRATE et al. 2015; CHAPMAN et al., 2011; SZARKA et al., 2008; LEE et al., 2000). Por este motivo, optar pela refeição padronizada, garantiu que o  $^{13}\text{C}$ -SpBT fosse correlacionado a cintilografia e otimizou o processo de coleta de dados, já que os dois métodos de avaliação puderam ser realizados simultaneamente.

Os resultados do processamento das imagens cintilográficas são apresentados por curvas de contagem em função do tempo, como mostra a Figura 2. O comportamento decrescente dessas curvas ocorre pois as contagens de radiação  $\gamma$ , emitidas pelo decaimento do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , são limitadas aos contornos do estômago e as porções do bolo alimentar esvaziadas para o intestino são subtraídas da contagem inicial (imagem no tempo zero), atingindo seus valores mínimos ao final do exame (POWSNER; POWSNER, 2006; OLIVEIRA et al., 2006).

No  $^{13}\text{C}$ -SpBT, as curvas resultantes de DOB mostram comportamento contrário (Figura 3), pois a concentração de  $^{13}\text{CO}_2$  no ar expirado aumenta a medida que o  $^{13}\text{C}$  é absorvido. Partem de valores próximos de zero (coleta imediata ao término da refeição) e alcançam valores de DOB máximos aproximadamente 3h após a ingestão da refeição (Figura 3B). Na hora final do exame, entre 3 e 4h, a curva é estabilizada e os valores de DOB descrevem o intervalo de tempo de concentração máxima de  $^{13}\text{C}$  sendo metabolizado, compatível ao período em que o a maior porção do bolo alimentar inicial

já foi esvaziamento para o intestino, disponibilizando às células absorptivas quantidades mais elevadas de substrato (LEE et al., 2000; PARTHASARATHY et al., 2017; BHARUCHA et al., 2016; ODUNSI et al., 2009).

A Figura 4 mostra o comportamento da variação de  $^{13}\text{C}_{\text{kPCD}}$  ao longo do tempo, resultando em curvas com o mesmo comportamento das observadas na Figura 3, indicando que o processo de aquisição de  $^{13}\text{C}_{\text{kPCD}}$ , a partir das equações matemáticas já citadas, não interfere no formato das curvas já descritas pelos valores de DOB no  $^{13}\text{C}_{\text{SpBT}}$ .

Entretanto, os valores de DOB obtidos por  $^{13}\text{C}_{\text{OBT}}$ , descritos nas curvas da Figura 5, não se assemelham a variação de DOB por  $^{13}\text{C}_{\text{SpBT}}$ . Pois a concentração máxima de  $^{13}\text{CO}_2$  expirado pela paciente é atingida entre 1,5h e 2,5h após a ingestão da refeição. Em seguida, essas concentrações diminuem e as curvas mostram comportamento decrescente até o fim do período de coletas. Esse perfil de comportamento também é descrito pelas curvas de  $^{13}\text{C}_{\text{PDR}}$  da Figura 6. Expondo que os parâmetros incluídos no cálculo de  $^{13}\text{C}_{\text{PDR}}$  também não modificam a variação dos valores de DOB ao longo do tempo no  $^{13}\text{C}_{\text{OBT}}$ .

Esta diferença entre  $^{13}\text{C}_{\text{SpBT}}$  e  $^{13}\text{C}_{\text{OBT}}$  é explicada pelo fato do  $^{13}\text{C}_{\text{OBT}}$  ser dependente da porcentagem de dose de  $^{13}\text{C}$  recuperada da metabolização do substrato absorvido no momento em que a coleta de expiração foi feita. Desta forma, os valores de DOB estão diretamente ligados a quantidade do bolo alimentar esvaziado pelo estômago naquele momento t. Sendo assim, o protocolo de processamento de dados no  $^{13}\text{C}_{\text{OBT}}$ , exige que os valores de  $^{13}\text{C}_{\text{cPDR}}$  (equação 8) sejam obtidos a partir da integral de  $^{13}\text{C}_{\text{PDR}}$  em função do tempo. Este passo modifica o comportamento da curva, pois adiciona o efeito acumulativo nas concentrações  $^{13}\text{CO}_2$  (BRUNO et al.,

2013; CHOI et al., 1997; NGUYEN et al., 2008; NGUYEN et al., 2013; PUNKKINEN et al., 2006; BROMER et al., 2002; JACKSON et al., 2004; HAUSER et al., 2016; HORNER et al., 2016).

Incluindo o efeito acumulativo nos valores de DOB por  $^{13}\text{C}$ -OBT, gerando cDOB, o momento de pico das curvas é deslocado para a direita, atingindo valores máximos 3h após a ingestão da refeição, como mostra a Figura 7. O mesmo ocorre nas curvas de  $^{13}\text{C}$ \_cPDR descritas na Figura 8. Sendo assim, esse passo proporciona aos resultados de  $^{13}\text{C}$ -OBT variações semelhantes as encontradas pelo  $^{13}\text{C}$ -SpBT, que já proporciona concentrações de  $^{13}\text{CO}_2$  acumuladas no metabolismo ao longo das 4h de coleta.

Analisando os parâmetros que constituem as equações para cálculo de  $^{13}\text{C}$ \_kPCD e  $^{13}\text{C}$ \_cPDR, equações 6 e 7 respectivamente, é possível identificar que apenas a  $\text{CO}_2\text{PR}$  e o DOB não são valores constantes. A  $\text{CO}_2\text{PR}$  é calculada a partir da BMR, do EE e do  $\text{VCO}_2$  da paciente, considerando seu peso, altura, idade e o fator atividade física (os resultados desses parâmetros, calculados para cada paciente, estão disponíveis na Tabela 2). Entretanto, essas características são constantes na paciente durante o período em que o  $^{13}\text{C}$ -SpBT, ou o  $^{13}\text{C}$ -OBT, é realizado. Sendo assim, é possível afirmar que apenas os valores de DOB são alterados nas 4h em que as amostras de expiração são coletadas. A partir disso, é justificada a segunda hipótese deste estudo, que o processamento dos dados no  $^{13}\text{C}$ -GEPT pode ser simplificado.

Ao correlacionar os valores de  $T_{1/2}(\text{min})$  calculados a partir dos dados de  $^{13}\text{C}$ \_kPCD aos resultados de  $T_{1/2}(\text{min})$  obtidos considerando apenas a variação de DOB no  $^{13}\text{C}$ -SpBT, o coeficiente de Pearson demonstra que a relação entre esses resultados é

perfeitamente correlacionada, com  $r=1$ . Bem como a correlação entre  $T_{1/2}(\text{min})$  adquiridos por  $^{13}\text{C}_{\text{cPDR}}$  e  $T_{1/2}(\text{min})$  calculados por cDOB no  $^{13}\text{C}\text{-OBT}$  ( $r=1$ ).

Diante disso, é possível otimizar o processamento dos dados do  $^{13}\text{C}\text{-SpBT}$ , do protocolo que já era utilizado no estudo (LEE et al., 2000) e outros feitos depois deste (SZARKA et al., 2008; ODUNSI et al., 2009; BHARUCHA et al., 2015; PARTHASARATHY et al., 2017; BHARUCHA et al., 2016), utilizando apenas os valores de DOB e desconsiderando os passos para cálculo de  $^{13}\text{C}_{\text{kPCD}}$  sem que a eficiência da aquisição do resultado de  $T_{1/2}$  seja afetada.

No  $^{13}\text{C}\text{-OBT}$ , o protocolo de processamento de dados utilizando  $^{13}\text{C}_{\text{cPDR}}$  foi respeitado por (GHOOS et al., 1993) e repetido por muitos outros estudos (CHOI et al., 1997; RITZ et al., 2001; BROMER et al., 2002; PUNKKINEN et al., 2006; NGUYEN et al., 2008; MARKEY; SHAFAT, 2013; BRUNO et al., 2013; NGUYEN et al., 2013; HAUSER et al., 2016). Entretanto, calcular os valores de  $T_{1/2}$  considerando apenas os resultados de cDOB no  $^{13}\text{C}\text{-OBT}$  simplifica este processo e garante a eficiência dos resultados.

A otimização do processo de aquisição do  $t_{1/2}$ , considerando apenas a variação dos valores de DOB ao longo do tempo, possibilita que o  $^{13}\text{C}\text{-GEBT}$  seja aplicado sem a necessidade da coleta de dados do paciente, como peso, altura, idade e nível de atividade física realizada por ele. Além disso, a redução na quantidade de equações utilizadas ao longo do processo reduz a probabilidade de erro nos resultados finais.

Na Tabela 3 estão contidos os resultados de  $t_{1/2}(\text{min})$  das 24 pacientes, utilizando as três técnicas de avaliação do GE sólido,  $^{13}\text{C}\text{-OBT}$ , cintilografia e  $^{13}\text{C}\text{-SpBT}$ . Nas duas metodologias usadas para aquisição do  $T_{1/2}$  por  $^{13}\text{C}\text{-SpBT}$ , uma considerando apenas 4 pontos de coleta, após ingestão da refeição, e a outra

considerando todas as coletas feitas após a ingestão da refeição (10 pontos), a diferença entre as médias dos valores de  $T_{1/2}$ , calculadas para cada metodologia, mostra que considerando 10 pontos, os valores de  $T_{1/2}$  tiveram um aumento médio de 7,84% em relação aos obtidos considerando apenas 4 pontos, com desvio-padrão médio de 7,61%.

Na relação entre a cintilografia e o  $^{13}\text{C}$ -SpBT na avaliação do GE sólido, os valores de  $T_{1/2}$  obtidos pela técnica padrão-ouro foram correlacionados com o  $^{13}\text{C}$ -SpBT, inicialmente considerando 10 pontos, utilizando regressão linear. O coeficiente de Pearson ( $r=0,554$ ) mostrou que há correlação positiva entre as técnicas, mas esta correlação é diferente de zero, como  $p<0,001$ . Ou seja, há diferença significativa na correlação e ela é expressa como  $T_{1/2}(\text{SpBT}, 10 \text{ pontos}) = 49,376 + 0,573 \times T_{1/2}(\text{cintilografia})$ , com  $T_{1/2}$  em minutos.

Considerando os valores de  $T_{1/2}$  calculados com 4 pontos, apenas os coletados nos momentos em que imagens de cintilografia foram obtidas, O coeficiente  $r=0,483$  mostra correlação positiva entre esses resultados e os valores de  $T_{1/2}$  por cintilografia com  $p<0,001$  a diferença da correlação é diferente de zero e dada por  $T_{1/2}(\text{SpBT}, 4 \text{ pontos}) = 39,880 + 0,609 \times T_{1/2}(\text{cintilografia})$ , com  $T_{1/2}$  em minutos.

Na relação entre resultados de cintilografia e  $^{13}\text{C}$ -OBT, obtidos em 20 pacientes, a regressão linear apresentou coeficiente  $r=-0,041$ , mostrando que essa correlação é negativa e considerada desprezível, com grau de significância  $p=0,431$ . O mesmo é afirmado para a relação entre  $^{13}\text{C}$ -OBT e  $^{13}\text{C}$ -SpBT ( $n=20$ ), com  $r=-0,80$  e  $p=0,368$ . Esse resultado é explicado pela diferença na composição nutricional da refeição utilizada entre as técnicas. Entretanto, estudos feitos com  $^{13}\text{C}$ -OBT e cintilografia, utilizando a mesma refeição nas duas técnicas, mostram bons resultados na correlação feita entre os valores de  $T_{1/2}$  obtidos por cada delas. Com  $T_{1/2}(^{13}\text{C-OBT}) =$

$66.09 + 1.12 \times T_{1/2}(\text{cintilografia})$ , obtido ainda em (GHOOS et al., 1993), ou com  $T_{1/2}({}^{13}\text{C-OBT}) = 44,55 + 1.01 \times T_{1/2}(\text{cintilografia})$  em (HAUSER et al., 2016).

A eficiência no uso do  ${}^{13}\text{C-SpBT}$ , ou do  ${}^{13}\text{C-OBT}$ , oferece ao paciente uma possibilidade de avaliação não radioativa e mais confortável, já que é feito apenas por coletas de amostras de expiração, que podem ser realizadas fora do ambiente hospitalar, inclusive em lugares distantes do laboratório de análise, pois as amostras não apresentam prazo de validade e, por não serem radioativas, podem ser transportadas. Além disso, o  ${}^{13}\text{C-GEBT}$  é aplicado mais facilmente em crianças que a cintilografia, que exige que o paciente fique imóvel, e o uso de isótopos estáveis não apresenta restrição na avaliação de mulheres gestantes ou que estão em fase de amamentação.

## 7. CONCLUSÃO

O estudo mostra que o uso de isótopos estáveis, pelo teste respiratório com [ $^{13}\text{C}$ ]-*Spirulina platensis* é eficiente, quando comparado à cintilografia de GE, na aquisição do  $T_{1/2}(\text{min})$  de uma refeição sólida de 255kcal. Entretanto, a alteração da composição nutricional desta refeição impossibilitou avaliar a eficiência no uso do substrato [ $^{13}\text{C}$ ]-ácido octanoico. Ainda assim, assegurou que o processamento de dados do  $^{13}\text{C}$ -OBT e do  $^{13}\text{C}$ -SpBT é otimizado quando apenas a variação dos valores de DOB, em função do tempo, são considerados para cálculo de  $T_{1/2}(\text{min})$ .

## BIBLIOGRAFIA

ABELL T. L. et al. Consensus Recommendations for Gastric Emptying Scintigraphy: A Joint Report of the American Neurogastroenterology and Motility Society and the Society of Nuclear Medicine. **American Journal of Gastroenterology**, Vol. 103, p. 753-763, 2008. DOI 10.1111/j.1572-0241.2007.01636.x

BERG P.; MACCALLUM R. Dumping Syndrome: A Review of the Current Concepts of Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. **Digestive diseases and sciences**, vol. 61, p. 11-18, 2016. DOI 10.1007/s10620-015-3839-x.

BERTHOL, H.K. et al., Uniformly <sup>13</sup>C-labeled algal protein used to determine amino acid essentiality in vivo. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA**. Vol.88, p.8091-8095, 1991.

BONFRATE L. et al. Dynamic carbon 13 breath tests for the study of liver function and gastric emptying. **Gastroenterology report**, vol. 3, p. 12-21, 2015. DOI 10.1093/gastro/gou068.

BHARUCHA A. E. et al. Comprehensive Assessment of Gastric Emptying with a Stable Isotope Breath Test. **Neurogastroenterology and motility: the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society**, vol. 25, p. 1-21, 2016. DOI 10.1111/nmo.12054.

BHLTHSCIL. G. T. et al. Postprandial hypotension is associated with more rapid gastric emptying in healthy older individuals. **Journal of the American Medical Directors Association**, vol. 16, p. 521-523, 2015. DOI 10.1016/j.jamda.2015.01.097.

BRADEN B. Methods and functions: Breath tests. **Best practice & research. Clinical gastroenterology**, vol. 23, p. 337-352, 2009. DOI 10.1016/j.bpg.2009.02.014.

BROMER M. Q. et al. Simultaneous Measurement of Gastric Emptying with a Simple Muffin Meal Using [<sup>13</sup>C]Octanoate Breath Test and Scintigraphy in Normal Subjects and Patients with Dyspeptic Symptoms. **Digestive diseases and sciences**, vol. 47, p. 1657-1663, 2002. DOI 10.1016/S0895-7958(02)0700-1.

BRUNO G. et al. <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test to study gastric emptying time. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, vol. 17, p. 59-64, 2013.



CHAPMAN, M. J. et al. Gastric emptying of a liquid nutrient meal in the critically ill: relationship between scintigraphic and carbon breath test measurement. **Gut**, vol. 60, P. 1336-1343, 2011. DOI 10.1136/gut.2010.227934.

CHOI, M. et al. [<sup>13</sup>C]Octanoic Acid Breath Test for Gastric Emptying of Solids: Accuracy, Reproducibility, and Comparison With Scintigraphy. **Gastroenterology**, vol. 112, p. 1155-1162, 1997.

CIFERRI O.; TIBONI O. The biochemistry and industrial potential of spirulina. **Annual Review of Microbiology**, vol.39 p.503-26, 1985.

COLLA, L. M. et al. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, vol. 98, n. 7, p.1489-1493, 2007.

COUTURIER, O. et al. Gastric Scintigraphy with a liquid-solid radiolabelled mead: performances of solid and liquid parameters. **Nuclear Medicine Communications**, vol.25, p.1143-1150, 2004.

D'ANGELO, G. et al. Tricks for interpreting and making a good report on hydrogen and <sup>13</sup>C breath tests. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, vol. 17, p. 90-98, 2013.

DEANE, A.M. et al. Intrasubject variability of gastric emptying in the critically ill using a stable isotope breath test. **Clinical Nutrition**, vol.29, p.682-686, 2010.

DUCATTI, C. Aplicação dos isótopos estáveis em aquicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol. 36, p. 1–10, 2007.

DUCATTI, C. et al. Utilização de isótopos estáveis em ruminantes. **R. Bras. Zootec.**, vol.40, p.68-75, 2011.

EISBERG, R; R. RESNICK, **Física Quântica**, Editora Campus, 17<sup>a</sup> tiragem, 1979.

GHOOS, Y.F. et al., Measurement of Gastric Emptying Rate of Solids by Means of a Carbon-Labeled Octanoic Acid Breath Test. **Gastroenterology**, vol. 104, p. 1640-1647, 1993.

GUYTON, A. C. **Fisiologia Gastrintestinal. Tratado de Fisiologia Médica**, Elsevier, ed. 9, c. 62, p. 600-647, 2011.

HAUSER, B. et al. Gastric Emptying of Liquids in Children. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, vol. 62, p. 403-408, 2016. DOI 10.1097/MPG.0000000000000954.

KARAMANOLIS, G. et al. Determinants of symptom pattern in idiopathic severely delayed gastric emptying: gastric emptying rate or proximal stomach dysfunction?. **Gut**, vol. 56, p. 29-36, 2007. DOI 10.1136/gut.2005.089508.

LEE J. S. et al. A valid, accurate, office based non-radioactive test for gastric emptying of solids. **Gut**, vol. 46, p. 768–773, 2000.

LEHNINGER et al. **Bioquímica**. Elsevier, 2007.

LIN H.C. et al. Fat intolerance depends on rapid gastric emptying. **Digestive Diseases and Sciences**, vol. 44, p. 330–5, 1999.

LORENA, S.L.S et al., Gastric emptying and intragastric distribution of a solid meal in functional dyspepsia. **Journal of Clinical Gastroenterology**, vol. 38, n. 3, p. 230-236, 2004.

LOSS, A. B. et al. Avaliação as síndrome de dumping em pacientes obesos mórbidos submetidos à operação bypass gástrico com reconstrução Y de Roux. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, vol. 36, p. 413-419, 2009.

MAES, B. M. et al. Gastric emptying flow curves separated from carbon-labeled octanoic acid breath test results. **American Journal of Physiology**, vol. 275, p 169-175, 1998.

MARKEY O.; SHAFAT A. The carbon dioxide production rate assumption biases gastric emptying parameters in healthy adults. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, vol. 27, p. 539–545, 2013.

MODAK, A. S. Stable isotope breath tests in clinical medicine: a review. **Journal of breath research**, vol. 1, p. 014003, 2007. DOI 10.1088/1752-7155/1/1/014003.

MUCCIO, Z.; JACKSON G. P. Isotope Ratio Mass Spectrometry. **The Analyst**, vol. 134, p. 213-222, 2009. DOI 10.1039/b808232d.

NGUYEN N. Q. et al. The effects of sedation on gastric emptying and intra-gastric meal distribution in critical illness. **Intensive care medicine**, vol. 34, p. 454-460, 2008. DOI 10.1007/s00134-007-0942-2.

NGUYEN, N. Q. et al. Gastric emptying measurement of liquid nutrients using the (13)C-octanoate breath test in critically ill patients: a comparison with scintigraphy. **Intensive care medicine**, vol. 39, p. 1238-1246, 2013. DOI 10.1007/s00134-013-2881-4.

NGUYEN, N. Q. et al. The impact of admission diagnosis on gastric emptying in critically ill patients. **Critical care**, vol. 11, p. R16, 2007. DOI 10.1186/cc5685.

ODUNSI, S. T. et al. Optimizing analysis of stable isotope breath tests to estimate gastric emptying of solids. **Neurogastroenterology and motility: the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society**, vol. 21, p. 706-e38, 2009. DOI 10.1111/j.1365-2982.2009.01283.x.

OLIVEIRA, R. et al. Preparações radiofarmacêuticas e suas aplicações. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol.42, n.2, p.151-165, 2006.

PARTHASARATHY et al. Relationship Between Gastric Emptying and Diurnal Glycemic Control in Type 1 Diabetes Mellitus: A Randomized Trial. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, vol. 102, n.2, p. 398–406, 2017.

PEREIRA, G. A. et al. Fisiopatologia da sepse e suas implicações terapêuticas. **Medicina intensiva: Infecção e choque**, vol, 31, p. 349-362, 1998.

PIZZOFERRATO, M. et al. Specific <sup>13</sup>C functional pathways as diagnostic targets in gastroenterology breath-tests: tricks for a correct interpretation. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, vol. 17, p. 45-50, 2013.

POWSNER, R.A.; POWSNER E.R. **Nuclear Medicine Physics**. Imaging Intrumentation. Massachusetts: Blackwell Publishing, ed. 2, p.65-84, 2006.

PUNKKINEN, J. et al. Measuring gastric emptying: comparison of <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test and scintigraphy. **Digestive diseases and sciences**, vol. 51, p. 262-267, 2006. DOI 10.1007/s10620-006-3122-2.

SCHOFIELD, W.N. Predicting **basal metabolic rate, new standards and review of previous work**. Human Nutrition: Clinical Nutrition, ed.39C, suppl. 1, p. 5-41, 1985.

SZARKA, L. A. et al. A stable isotope breath test with a standard meal for abnormal gastric emptying of solids in the clinic and in research. **Clinical gastroenterology and hepatology**, vol. 6, p. 635–643. 2008. DOI:10.1016/j.cgh.2008.01.009

TRANCON, L.E. et al. Relationships between intragastric food maldistribution, disturbances of antral contractility, and symptoms in functional dyspepsia. **Digestive Diseases and Sciences**, vol.51, n.3, p.517-526, 2006.

WANJGARTEN, M. et al. Abordagem das hipotensões ortostática e pós-prandial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, vol.14, p.29-32, 2007.

WYLLIE, R.; HYAMS J. Pediatric Gastrointestinal and Liver disease. **Elsevier**. Ed 4, 2011.

ZANASI, R. et al. Determinations of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  Carbon Isotope Ratio. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, vol. 78, n. 9, p. 3080–3083, 2006.[doi:10.1016/j.clnu.2010.03.007](https://doi.org/10.1016/j.clnu.2010.03.007).