



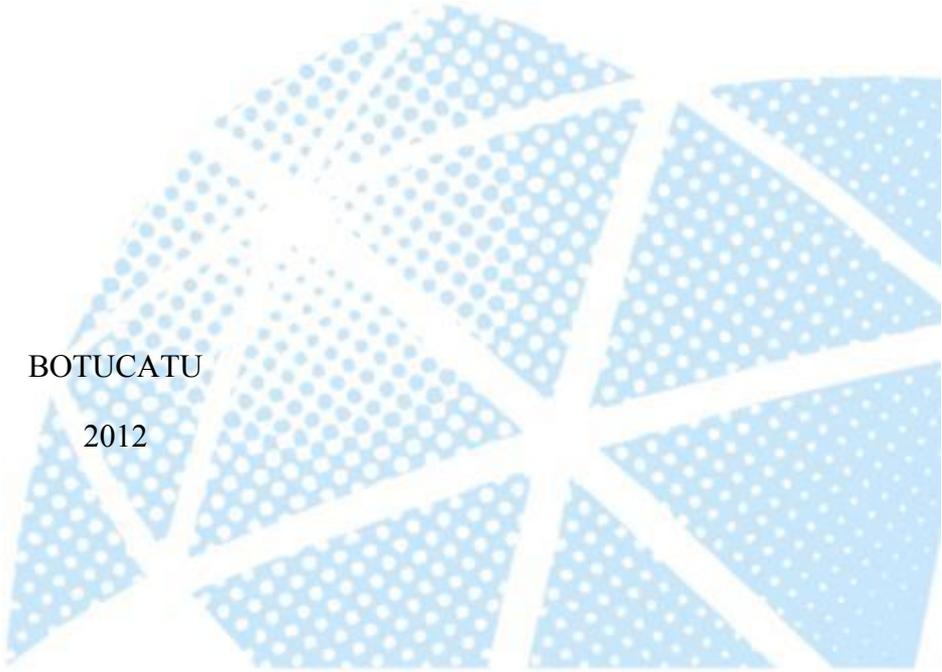
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

**BIOSUSCEPTOMETRIA DE CORRENTE ALTERNADA
PARA AVALIAÇÃO DO TRÂNSITO GASTRINTESTINAL
DE ALIMENTOS LÍQUIDOS EM RATOS**

LUÍS GUSTAVO DE OLIVEIRA SIMÕES

BOTUCATU

2012





UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

**BIOSUSCEPTOMETRIA DE CORRENTE ALTERNADA
PARA AVALIAÇÃO DO TRÂNSITO GASTRINTESTINAL
DE ALIMENTOS LÍQUIDOS EM RATOS**

LUÍS GUSTAVO DE OLIVEIRA SIMÕES

Relatório final de Iniciação Científica apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – UNEP, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Bacharel em Física Médica.

Orientador:

Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda

BOTUCATU

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO

DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Simões, Luís Gustavo de Oliveira.

Biosusceptometria de corrente alternada para avaliação do trânsito gastrointestinal de alimentos líquidos em ratos / Luís Gustavo de Oliveira Simões. – Botucatu : [s.n.], 2012

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Física Médica) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José Ricardo de Arruda Miranda

Capes: 20903006

1. Biotecnologia. 2. Nanopartículas. 3. Sistema gastrointestinal – Motilidade. 4. Biossensores.

Palavras-chave: Biosusceptometria; Nanopartículas; Trânsito gastrointestinal.

Agradecimentos

À Deus, pois sem ele nada disso seria possível.

À minha mãe, Sônia, pelo amor, carinho, dedicação, calma e tranquilidade desde o início da minha vida ser o meu maior exemplo de dignidade, vontade, força e fé em mim mesmo.

Ao meu pai, Luís Otávio, pelo amor, carinho, confiança em mim e suporte durante toda a vida, sendo meu amigo em todos os momentos de necessidade.

Ao meu irmão, Leonardo, por todas as brigas e risadas compartilhadas desde quando dividíamos quarto quando crianças até nos momentos complicados por quais já passei e por ser meu melhor amigo e cúmplice.

Vocês três são meus pilares e devo tudo a vocês, agradeço a educação e dedicação sempre, me mostram como a vida é e me ajudam a obter êxito nela, obrigado.

Aos meus avós, Silvino e Germina, Luís e Lourdes que ficaram tão felizes por meu ingresso numa universidade pública e por fazerem todos os meus gostos, por todo o suporte e preocupação.

A toda minha família que me suporta em todas as ocasiões, sendo certa ou errada, boa ou ruim, pela educação, por comprarem minhas várias rifas durante os três últimos anos e por tornarem meu natal e ano novo as festividades mais animadas de todas.

À minha namorada, Camilla, que teve paciência e força para passar por tudo o

que passamos na graduação, por me ensinar muitas coisas, pela paciência nos estudos e trabalhos até tarde e por me acompanhar na loucura e na calma.

Aos meus sogros, Arthur e Marinilze, e cunhada, Bruna, por me acolherem tão bem e fazerem da sua casa a minha casa.

Aos meus amigos de Marília, por nunca deixarem de lembrar-se de mim, por fazerem dos meus finais de semanas e churrascos serem momentos marcantes, por comprarem minhas milhares rifas e por estarem prontos sempre que precisei.

Aos meus companheiros de república, Danilo, Caio, Guilherme e vizinhos que participaram da minha bagunça em casa, me acompanharam em festas, que tiveram paciência no meu aprendizado musical e fizeram meus dias sempre animados e engraçados.

Ao Fábio, meu melhor amigo em Botucatu, pelos conselhos, estudos, festas, conversas importantes, suportar minha teimosia, projetos e por ser companheiro sempre e amigo de verdade.

Aos meus amigos da VI Fismed, pelo companheirismo, loucuras, churrascos, auxiliar nas matérias difíceis, por me ensinar a conviver com as diferenças, pelos momentos em bares em plena manhã, pelas viagens, risadas, por gostarem de fazer música comigo e pelas amizades que levarei para o resto da minha vida, dentre outras coisas.

À minha família Bombateria, que deixaram de ser amigos e se tornaram uma família, que confiaram em mim para fazer parte desta equipe desde sempre, por me garantirem a música de toda

semana e por me proporcionar viagens, risadas, loucuras e muito barulho.

Ao meu orientador José Ricardo de Arruda Miranda, que me aceitou como aluno de iniciação científica e por me proporcionar um crescimento profissional.

Aos meus amigos de Laboratório, que sempre me explicam o que eu não sei e pelas risadas e piadas durante o dia no laboratório.

Ao Caio, que tenho como amigo fora ou dentro do laboratório e que é meu co-orientador, me ensinando a escrever, me orientando nas leituras, me ensinando a fazer tudo no laboratório, pelas broncas e elogios e por me colocar nas “barcas” que no final das contas me trás benefícios.

Ao Marcos, que tenho como amigo também e que sempre está disposto a me explicar teorias, revisar meus trabalhos e painéis antes de congressos e apresentações.

Ao Ronaldo, Gustavo, Juliana, André e todos os alunos de IC que me auxiliam em tudo o que eu preciso, pelo café da manhã e da tarde, pelos momentos de descontração e gambiarras no laboratório.

À Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, ao instituto de Biotecnologia, ao Departamento de Física e Biofísica e ao Laboratório de Biomagnetismo, pela infra-estrutura, docentes, e formação acadêmica

Resumo

O trato gastrintestinal (TGI) é a via principal de absorção de nutrientes e administração de fármacos. É importante que se conheça os parâmetros relacionados ao trato, como esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal, para que se entenda melhor o comportamento de diferentes tipos de alimentos ou drogas ao passar pelo TGI. Diferentes técnicas são utilizadas para estudar estes parâmetros, manometria, cintilografia, marcação de ração com vermelho-fenol, carvão ativado e carbono-13. Porém, estes métodos são invasivos, se utilizam de radiação ou necessitam de sacrifício de animais. Com uma proposta alternativa a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC), uma técnica biomagnética, vem se mostrando eficaz para estes tipos de estudos em animais de pequeno porte, de forma não invasiva, com baixo custo, livre de radiação e sem necessidade de sacrifício animal. Associando a BAC com micro ou nanopartículas magnéticas utilizadas como marcadores, é possível realizar o estudo do comportamento do alimento dentro do TGI. Focando principalmente na digestão de alimentos líquidos, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da técnica BAC para avaliação do esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de alimentos líquidos em ratos. Para isto, nanopartículas magnéticas (ferrita, $MgFe_2O_4$) foram usadas como marcadores numa solução de 1,5 ml e introduzida por gavagem em ratos com peso e idade semelhantes. O sensor, composto por 2 pares de bobinas, capaz de gerar e detectar campos magnéticos, cria um campo magnético no local de interesse no animal que, quando em contato com o alimento marcado é alterado, resultando em uma alteração na voltagem medida. Esta variação é analisada e é obtido um valor proporcional à concentração de partículas na região de interesse. Os resultados mostraram que é possível utilizar a técnica para avaliação do TGI na digestão de partículas líquidas, pois foram obtidas curvas de esvaziamento gástrico e tempo de chegada do alimento no ceco e, a partir destes valores, é possível obter um padrão de trânsito gastrintestinal. Foram adquiridos os valores médios de tempo de ambos os processos, mostrando que a técnica também é capaz de quantificar o tempo para cada um dos parâmetros, além de promover um estudo do intestino delgado. Uma vez obtido as curvas padrão para cada parâmetro, a BAC pode ser utilizada para diagnosticar patologias e pesquisas na área da farmacotécnica relacionadas com o TGI tanto em animais como em humanos.

Abstract

The gastrointestinal tract is the main route of nutrients absorption and drugs delivery. Is important to know the parameters related to the tract, like gastric emptying and gastrointestinal transit, in order to better understand the behavior of different kind of meals or drugs passing through the GIT. Many techniques are used to study these parameters, such as manometry, scintigraphy, phenol red, activated charcoal and carbon-13 reading. However, these methods use radiation, are invasive and require animal sacrifice. As an alternative proposal, the Alternate Current Biosusceptometry (ACB), a magnetic technique, has proved to be effective for these studies with small animals, in a noninvasive way, low cost, radiation free and avoiding the animal death. Associating the ACB to magnetic micro or nanoparticles used as tracers, it is possible to observe the meal behavior inside of the GIT. Focusing mainly on liquid meals digestion, this paper had the objective to evaluate the efficiency of the ACB technique in gastric emptying and gastrointestinal transit evaluation of liquid meals in rats. To perform the experiments, magnetic nanoparticles (ferrite, $MgFe_2O_4$) were used on a 1,5 ml solution introduced by gavage on similar weight and age rats. The sensor made by 2 pairs of coils, capable of generating and detecting magnetic fields, creates a field on the interest place and when this field is in contact with the marked meal, it changes, resulting on a variation of the measured voltage. The voltage variation is analyzed and is obtained a particle concentration on the interest region. The results showed that is possible to apply the ACB technique on the GIT evaluation of liquid particles digestion, gastric emptying and meal cecum arrival time curves were obtained and from that, is possible to observe a pattern of gastrointestinal transit. Both mean process time values were acquired, proving the technique capability of each process time quantification, beyond promoting a small intestine study. Once these patterns are obtained for each parameter, ACB can be used to perform pathologies diagnoses and researches on pharmacotechnique area related to the GIT in both animals and humans.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	2
2. OBJETIVO	5
3. METODOLOGIA.....	5
3.1 A BIOSUSCEPTOMETRIA DE CORRENTE ALTERNADA	5
3.2 O SENSOR BAC.....	6
3.3 A FÍSICA DO SISTEMA BAC	7
3.4 O EXPERIMENTO.....	9
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	12
5. CONCLUSÃO	16
6. REFERÊNCIAS	18

1. INTRODUÇÃO

O trato gastrointestinal (TGI) possui um importante papel na absorção de nutriente e na administração de fármacos e seu estudo é fundamental para eventuais diagnósticos e caracterização de patologias e fármacos que alterem o seu estado normal de funcionamento. Os principais parâmetros analisados são o esvaziamento gástrico e a atividade de contração em diferentes pontos do trato. Para isto existem vários métodos já empregados para realização deste tipo de estudos.

O método mais conhecido e consagrado é a cintilografia por gama câmara. Ele consiste na preparação de um alimento marcado com ^{99m}Tc para estudos de esvaziamento de partículas sólidas e de um alimento marcado com ^{111}In para estudos de esvaziamento líquido. Após os alimentos serem ingeridos, o animal é colocado em contato com uma gama câmara para efetuar a contagem dos fótons emitidos pelos marcadores. Como resultado, esta técnica fornece uma medida direta através da quantificação dos parâmetros do trato, porém ele está intimamente ligado à escolha do alimento marcado, da posição do paciente e da rotina utilizada, tornando a análise subjetiva [1], além de se utilizar da radiação para se obter as imagens do processo.

Outra forma de se estudar o TGI é a manometria. Ela se limita a analisar apenas a atividade de contração gástrica e consiste na introdução de uma sonda fina contendo sensores que estão ligados a um equipamento de medida de pressão via oral. Apesar de não causar dor e nem necessitar de sedação, ela envolve um alto grau de invasividade e desconforto para o paciente, além do próprio método alterar eventos mecânicos do trato [2].

A criação de um modelo animal para experimentação é bastante utilizada para essas análises, dentre elas se destacam as técnicas que utilizam alimentos marcados, geralmente com vermelho fenol ou carvão ativado. Essa técnica consiste em marcar um determinado tipo de alimento e, em tempos pré-determinados verificar a marcação feita no TGI para avaliar o esvaziamento e a

motilidade gástrica, porém ela depende de fatores particulares do animal, como elasticidade e tamanho do trato e, ainda apresenta uma alta invasividade com inserção de cateteres e eventualmente a morte do animal [3, 4, 5].

A marcação com isótopos, como o carbono-13, monitora o esvaziamento gástrico por meio da comparação da taxa de dióxido de carbono ($^{13}\text{CO}_2$) expirada pelo animal, sendo possível medir o esvaziamento de acordo com a quantidade inicial ingerida pelo animal. Apesar de apresentar resultados em tempo real, ela fornece uma medida indireta, pois ela quantifica o $^{13}\text{CO}_2$ absorvido no duodeno, metabolizado no fígado e expirado na respiração, de forma que sempre uma quantidade desse gás permanece no corpo, tornando a medida imprecisa. Também, ela necessita de uma instrumentação apropriada, como cubas especiais e devidamente vedadas e ambiente adequado, envolvendo um alto custo [6, 7].

O estudo do esvaziamento gástrico para partículas sólidas e líquidas se difere no comportamento entre estes tipos de alimentos. Um líquido pobre em nutrientes é esvaziado de maneira rápida do estômago e depende principalmente do volume intragástrico, já um líquido rico em nutriente é esvaziado de maneira mais demorada, ficando um tempo na parte distal do estômago e depende intimamente dos receptores de nutrientes do duodeno e de seus sistemas de *feedback* [8].

Utilizada e aprimorada desde 1990 por Baffa e Miranda, a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) é uma técnica biomagnética que promove uma análise dos processos de esvaziamento gástrico, motilidade gástrica e trânsito gastrointestinal a partir da interação entre o campo magnético e materiais de alta susceptibilidade magnética usados como marcadores no alimento, de forma não invasiva, direta, em tempo real e não utiliza radiação ionizante. Inicialmente aplicada em estudos de fisiologia do trato gastrointestinal de humanos, a técnica provou ser eficaz em estudos de motilidade e atividade de contração gástrica em humanos [9, 10, 11], processo de liberação de fármacos [12, 13] e, em modelos animais, motilidade gastrointestinal, obtendo resultados precisos. Além disto, o método vem sendo aprimorado e otimizado

para estudos mais complexos e específicos, a fim de garantir resultados cada vez mais fiéis.

Atualmente, os trabalhos já realizados utilizando a técnica de BAC foram feitos por meio da associação desta com partículas com propriedades ferromagnéticas, óxido de ferro com manganês (ferrita, $MgFe_2O_4$), que apresentam alta susceptibilidade magnética e não são absorvíveis. Para esvaziamento de partículas sólidas se utiliza micropartículas (de 50 a 100 μ) e para estudos com partículas líquidas se utiliza nanopartículas (200 η), as quais se apresentam na forma de fluidos, não absorvíveis, tornando possível o estudo de esvaziamento gástrico e motilidade gástrica desses tipos de alimentos [14, 15].

Desta forma, este trabalho foi desenvolvido a fim de se estudar o esvaziamento gástrico, o trânsito gastrintestinal e a chegada de alimentos líquidos no ceco utilizando a Biosusceptometria de Corrente Alternada associada a partículas nano estruturadas.

2. OBJETIVO

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de Biomagnetismo do departamento de Física e Biofísica do Instituto de Biociência de Botucatu e teve como objetivo avaliar a eficiência da técnica de Biosusceptometria de Corrente Alternada associada a nanopartículas na avaliação do processo de ingestão de alimentos líquidos para quantificação dos seguintes parâmetros:

Tempo de esvaziamento gástrico

Transito gastrintestinal

Chegada do alimento no ceco

3. METODOLOGIA

3.1 A BIOSUSCEPTOMETRIA DE CORRENTE ALTERNADA

A Biosusceptometria de Corrente Alternada se baseia na interação de um campo magnético com um material com propriedades magnéticas específicas, levando-se em consideração a susceptibilidade magnética do material, ou seja, quanto maior sua susceptibilidade magnética, maior sua interação com o campo magnético. Desta forma, ao introduzir o traçador magnético no sistema biológico que se deseja estudar e aplicar um campo magnético, consegue-se quantificar as ações do meio biológico através da interação resultante entre o traçador e o sistema BAC. A figura 1 ilustra como ocorre esta interação.

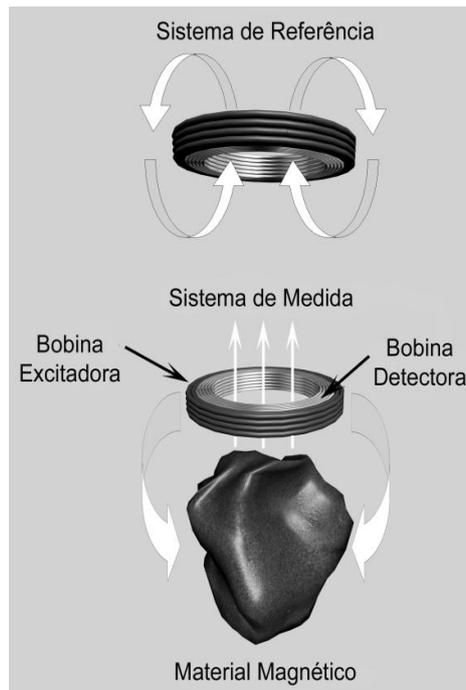


Figura 1: Ilustração da interação entre o campo magnético e o material magnético.

Na figura 1, no momento em que um fluxo magnético é gerado, linhas de campo interagem com o animal e, ao entrar em contato com o material magnético, estas linhas são alteradas, resultando num desbalanceamento destas proporcionalmente à concentração do traçador. Desta forma, a corrente induzida na bobina detectora é alterada e conseqüentemente o valor de tensão, diferindo do valor basal. O valor de tensão é adquirido para interpretação.

3.2 O SENSOR BAC

O sensor BAC é composto por dois pares de bobinas separadas por uma linha de base de 15 centímetros e arranjados coaxialmente em configuração gradiométrica de primeira ordem. Um par é utilizado para realizar as medidas, próximo ao material magnético (traçador), enquanto o outro é utilizado como referência. A interação entre o traçador e o fluxo magnético gerado pelo sensor pode ser quantificada.

Cada par é composto por uma bobina excitadora e uma detectora e, segundo a lei de indução de Faraday, quando uma bobina é exposta a um fluxo

magnético variável cria-se uma corrente induzida nesta e desta forma, ao aplicar uma corrente alternada na bobina excitadora, é criada uma corrente induzida na bobina detectora (figura 2). Ao entrar em contato com o traçador magnético o fluxo magnético é alterado e, conseqüentemente, a corrente induzida na segunda bobina, produzindo um sinal de acordo com a susceptibilidade magnética do material. O sinal é amplificado e selecionado através de um amplificador *Lock-in* e registrado.

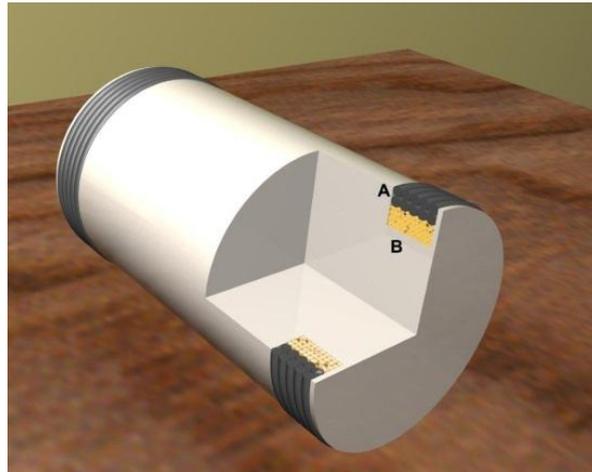


Figura 2: O sensor BAC. Na ilustração, a bobina excitadora (A) se posiciona externamente à bobina detectora (B).

3.3 A FÍSICA DO SISTEMA BAC

A susceptibilidade magnética de um material é dada por

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

onde χ é susceptibilidade magnética resultante, \vec{M} é a magnetização do elemento e \vec{H} é a intensidade magnética.

Para um material com a susceptibilidade magnética muito menor do que 1, este valor pode ser aproximado para $\chi = \frac{M}{B_0}$, onde B_0 é a permeabilidade magnética no vácuo e B é o valor correspondente a indução magnética [17].

Aplicando um campo magnético \vec{B}_a conhecido a um determinado material é possível quantificar a susceptibilidade magnética do mesmo e este teria um campo magnético resultante igual a $\vec{B}_a + \vec{B}_s$, onde \vec{B}_s é o campo resultante da magnetização do material e é resultado da contribuição do campo aplicado e do campo induzido.

Em se tratando da bobina de referencia, onde não há influencia do material magnetizado, o fluxo magnético ($\Delta\Phi_d$) é resultado apenas de \vec{B}_s , sendo

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

Considerando um campo magnético não uniforme, deve-se escrever o valor de \vec{B} como sendo resultado de um potencial vetorial magnético, obtendo

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

onde:

$$\vec{A} = \frac{0}{4\pi} \frac{\vec{m} \times \vec{r}}{r^3}. \quad (4)$$

Sendo assim, reescrevemos a equação 3 como

$$\Delta\Phi_d = \frac{0}{4\pi} \int \nabla \times \frac{\vec{m} \times \vec{r}}{r^3} d\vec{a}. \quad (5)$$

Aplicando o Teorema de Stokes e rearranjando esta equação, obtêm-se

$$\Delta\Phi_d = \frac{0}{4\pi} \vec{m}. \int \frac{\vec{r} \times d\vec{l}}{r^3}, \quad (6)$$

onde $d\vec{l}$ é a linha elementar de integração em torno da bobina de detecção. Segundo o Teorema da Reciprocidade, a bobina detectora sofre a influencia de uma corrente I_R que tem a mesma direção do vetor $d\vec{l}$, e pela Lei de Biot-Savart, o campo magnético resultante (\vec{B}_R) criado a partir de uma corrente (I_R) em qualquer ponto (x) da linha ($d\vec{l}$) é dado por

$$\vec{B}_R = \vec{I}_R \frac{0}{4\pi} \int \frac{d\vec{l} \times \vec{x}}{x^3}, \quad (7)$$

sendo $\vec{x} = -\vec{r}$, a equação 7 é reescrita como

$$\Phi_d = \vec{m} \cdot \frac{\vec{B}_R}{I_R}, \quad (8)$$

como o momento de dipolo magnético é dado por

$$\vec{m} = \vec{M}dV = \left(\chi \frac{\vec{B}_a}{\mu_0} \right) dV, \quad (9)$$

o fluxo magnético resultante da contribuição do volume infinitesimal dV será

$$\Delta\Phi_d = \frac{1}{\mu_0 I_R} \chi \vec{B}_a \cdot \vec{B}_R dV. \quad (10)$$

Os campos \vec{B}_a e \vec{B}_R são conhecidos em qualquer ponto considerado, então a equação acima pode ser escrita na forma geral

$$\Phi = \frac{1}{\mu_0 I_R} \int_{vol} \chi(x) \vec{B}_a(x) \cdot \vec{B}_R(x) d^3x, \quad (11)$$

onde x é uma variável qualquer, podendo ser integrada em qualquer coordenada.

Considerando o campo magnético e a corrente aplicada ao sistema sejam constantes, o fluxo magnético dependerá apenas da magnetização (susceptibilidade) do material, podendo escrever a equação 10 como

$$\Delta\Phi = S\Delta\chi, \quad (12)$$

sendo S os fatores intrínsecos ao sistema e a instrumentação.

3.4 O EXPERIMENTO

Para realizar o experimento, foi preparada uma solução contendo 1 ml (50 mg) de ferrofluido nanoestruturado em 0,5 ml de água destilada e introduzida nos animais por gavagem. Antes de cada medida, os ratos ficaram em jejum por 12 horas, com livre acesso à água. Transcorridos 5 minutos da administração da solução no rato, foi realizado o mapeamento das regiões de interesse, obtendo a distribuição das partículas marcadas através do TGI e a

variação de tempo do deslocamento destas partículas, viabilizando um perfil de distribuição temporal do alimento no trato com precisão nas medidas do esvaziamento gástrico e do transito gastrintestinal. A figura 3 ilustra os pontos de interesses que foram monitorados nos animais.

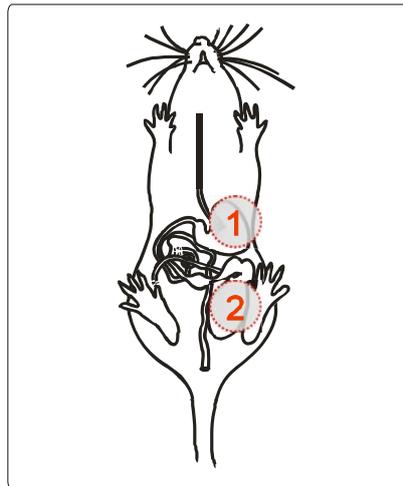


Figura 3: Posição anatômica dos pontos de interesse. O ponto 1 representa a projeção do estomago e o ponto 2 corresponde à projeção do ceco.

Com o sensor próximo ao rato, anotou-se o valor de tensão obtido e determinou o mesmo como sendo basal, que seria o valor referente à interação entre o sensor e o animal. Este valor foi utilizado depois para quantificar e diferenciar os dados e assim obter os valores de tensão resultante do desbalanceamento do campo magnético gerado pela bobina devido ao traçador.

Os valores para esvaziamento gástrico e chegada do alimento no ceco foram obtidos aproximando o sensor dos pontos de interesse num intervalo de 15 minutos por um período de 6 horas. A variação dos valores de tensão obtidos através dos pontos representa o transito gastrintestinal e, após correlacionar todos estes dados, foi possível obter uma curva padrão referente à concentração do traçador em cada ponto.

Foi utilizado um espaço amostral de 6 ratos *wistar* machos com peso médio de 300 g e, para análise estatística, foi utilizado o método descrito por Podczek, Newton e Yuen [18]. Foi determinado o tempo médio de

esvaziamento do alimento no estômago (MGET), relacionado com o esvaziamento gástrico, e o tempo médio de chegada do alimento no ceco (MCAT), relacionado com o transito gastrintestinal. Também foram obtidas as variâncias VGRT (referente ao MGRT) e VCAT (referente ao MCAT). Os resultados foram analisados utilizando o software MatLab® através de uma rotina que relaciona os valores de tensão obtidos em cada ponto em função do tempo durante o experimento.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Como explicado anteriormente, após jejum de 12 horas foi realizada a gavagem da solução marcada e esperou-se 5 minutos para iniciar as medidas. Foram mapeados os pontos (representados na figura 3) num intervalo de 15 minutos entre cada medida e os valores para MGET (tempo médio de esvaziamento gástrico) e MCAT (tempo médio de chegada no ceco) foram obtidos. As figuras 4 e 5 apresentam as curvas obtidas para esses valores para o rato 3.

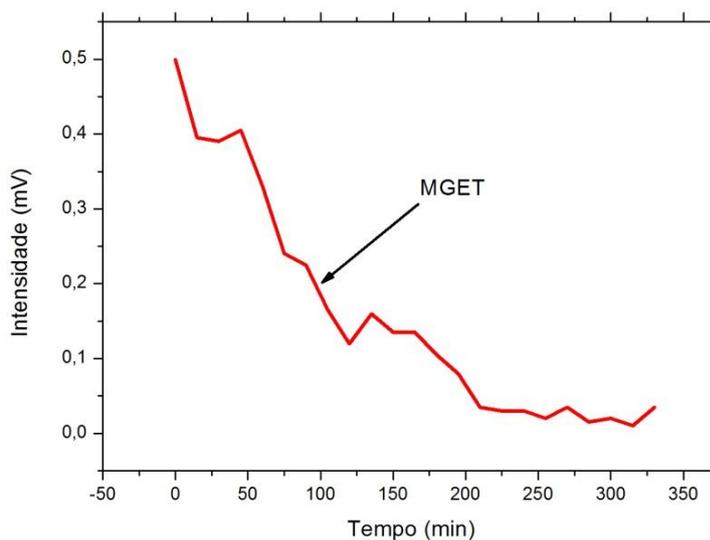


Figura 4: Gráfico ilustrativo da curva para esvaziamento gástrico. Valor de MGET correspondente a 97,47 minutos.

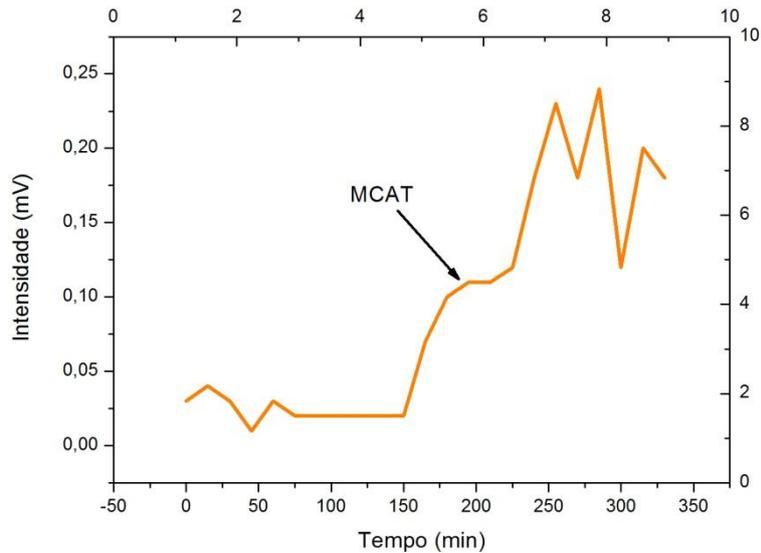


Figura 5: Gráfico ilustrativo da chegada do alimento no ceco. O valor correspondente para MCAT é 182,32.

As curvas apresentadas nas figuras 4 e 5 foram obtidas de acordo com a variação da intensidade de tensão em cada ponto, resultante da interação entre o sensor e o marcador que, por sua vez, é proporcional à quantidade de alimento presente nas regiões pré-determinadas.

Na figura 4 pode-se observar a curva referente aos valores para esvaziamento gástrico. Nela é verificado um padrão de decaimento exponencial, no qual o alimento líquido não permanece no estômago por muito tempo, fato verificado pelo início do decaimento já nos primeiros minutos de experimento e é anotado o valor de MGET. Já na figura 5, é ilustrada a curva para chegada do alimento no ceco. Nota-se que ela se inicia quase que simultaneamente ao esvaziamento gástrico, porém após 150 minutos de experimento é que temos um sinal crescente, mostrando a chegada de toda a porção do alimento no ceco. Também é observado o valor obtido para MCAT.

A figura 6 apresenta a junção das duas curvas, esvaziamento gástrico e chegada do alimento no ceco.

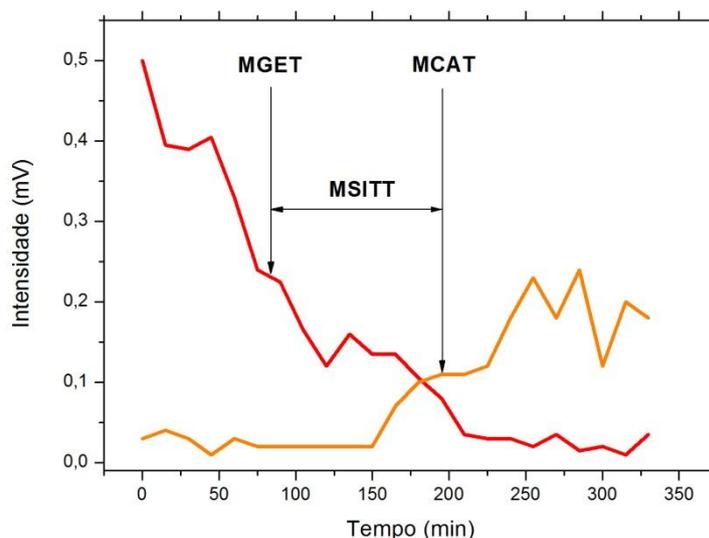


Figura 6: Gráfico ilustrativo do esvaziamento gástrico e chegada do alimento no ceco para comparação e análise completa. Nota-se o valor de MSITT correspondente a 92,35 minutos.

Utilizando a figura 6, consegue-se estudar todo o processo de trânsito gastrointestinal, desde o esvaziamento gástrico até a chegada do traçador no ceco. Nela podemos observar de forma melhor a relação entre os dois processos. Temos, desta forma, o padrão de trânsito gastrointestinal, possibilitando uma visualização do comportamento da curva e também a quantificação dos valores neste processo.

Ainda neste gráfico, temos o valor anotado para MSITT, valor referente ao tempo médio de trânsito do intestino delgado, dado como a diferença entre MCAT e MGET. A não simultaneidade dos processos de esvaziamento gástrico e chegada do alimento no ceco se deve a passagem do traçador pelo intestino delgado e este valor depende da interação entre o alimento e o próprio intestino, porém consegue-se quantificar este valor através da diferença entre os valores de MCAT e MGET, como dito anteriormente. Isto mostra que a técnica ainda pode ser utilizada para estudo do trânsito do alimento pelo intestino delgado.

A tabela 1 apresenta os valores obtidos de MGET, MCAT, VGET e VCAT para os seis ratos.

Tabela 1: Valores obtidos para esvaziamento gástrico e chegada do alimento no ceco com suas respectivas variâncias para cada rato utilizado.

Rato	MGET	VGET	MCAT	VCAT
1	102,3	8,61E+03	198,64	7,50E+03
2	101,6	5,05E+03	108,47	6,06E+03
3	83,44	4,93E+03	194,00	4,34E+03
4	93,34	6,93E+03	201,20	5,67E+03
5	92,24	7,02E+03	230,72	5,04E+03
6	111,8	6,70E+03	205,86	6,69E+03
Média	97,47	6540	189,82	5883,33

Com a tabela 1 verificamos os valores de MGET e MCAT com suas respectivas variâncias, VGET e VCAT. Desta forma, além de se obter uma análise da curva, podemos analisar e quantificar os valores, mostrando a capacidade da técnica BAC em qualificar e quantificar os parâmetros.

O momento estatístico foi escolhido segundo Podczeck, Newton e Yuen. Foi obtido através da média temporal ponderada pela curva de intensidade pelo tempo e normalizada pela área abaixo da curva, garantindo uma análise estatística mais precisa e valores de MGET e MCAT mais expressivos e passivos de uma qualificação melhor [18].

5. CONCLUSÃO

Este trabalho teve como objetivo verificar a eficiência da Biosusceptometria de Corrente Alternada associada à nanopartículas magnéticas no estudo de parâmetros do trato gastrointestinal de ratos para alimentos líquidos e os resultados mostraram que a técnica é eficaz para este tipo de estudo.

A Biosusceptometria de Corrente Alternada é baseada na interação entre um campo magnético e matérias com alta susceptibilidade magnética inseridos em uma refeição teste líquida e assim realizar um estudo referente ao comportamento deste alimento marcado. Diferentemente das outras técnicas como manometria, cintilografia e marcações com vermelho fenol, carvão ativado ou carbono-13, ela promove um estudo não invasivo, livre de radiação, com baixo custo e com resultados em tempo real.

Para avaliar o esvaziamento gástrico, conseguiu-se quantificar o tempo total que o alimento líquido leva para passar pelo estomago e ainda obteve-se a curva do comportamento destas partículas, possibilitando uma melhor visualização do processo, além de quantificar os valores de tempo e obter o tempo médio de esvaziamento gástrico (MGET).

A técnica provou ser capaz de quantificar o tempo de chegada do alimento no ceco e obteve-se o tempo médio de chegada no ceco (MCAT). Desta forma, juntamente com a curva de esvaziamento gástrico é possível ter um estudo completo sobre o trânsito gastrointestinal, e conseqüentemente, como os alimentos se comportam em sua passagem por todo o trato gastrointestinal.

Apesar de ser uma técnica em ascensão, ela mostrou ter sensibilidade e resolução suficiente para estes estudos em pequenos animais. Sua aplicação pode ser realizada em humanos e, tendo o padrão de esvaziamento e transito gastrointestinal, a BAC poderá ser utilizada no diagnóstico de eventuais patologias e em estudos na área da farmacologia, como por exemplo, o comportamento de uma droga, como ela altera estas curvas e no que resulta esta alteração.

Estudos novos já estão sendo realizados neste laboratório e já é possível a associação de nanopartículas ainda menores para avaliação do trato gastrintestinal e sua interação com fígado e rins, ou seja, englobando os processos de absorção e excreção. A alteração da motilidade gástrica e transito gastrintestinal devido a uma gastrectomia ou uma prenhes também vem sendo estudada, mostrando a aplicabilidade desta técnica em diversas áreas de interesses de forma não invasiva e excluindo a necessidade de sacrificar os animais.

6. REFERÊNCIAS

- 1 SZARKA, L. A.; CAMILLERI, M. Methods for measurement of gastric motility. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.** v.296, G461–G475, 2009.
- 2 AZPIROZ, F.; MALAGELADA, J.R. Intestinal Control of Gastric Tone. **Am. J. Physiol.** v.249, G501-G507, 1985.
- 3 BAGGIO, C.H. et al. Gastroprotective effects of a crude extract of *Baccharis illinita* DC in rats. **Pharmacol Res.** v.47, 95-8, 2003.
- 4 GARRICK, T. Intracerebroventricular pressure inhibits gastric antral and duodenal contractility but not acid secretion in conscious rabbits. **Gastroenterology.** v.95, 26-31, 1988.
- 5 KACKER A, V.; MEHTA B, V. S.; GUPTA, Y. K. Acute intracranial hypertension-induced inhibition of gastric emptying: evaluation in conscious rats. **Eur J Pharmacol.** v.369, 65 - 72, 1999.
- 6 CAMILLERI, M. et al. Measurement of Gastrointestinal Motility in the GI Laboratory. **Gastroenterology.** v.115, 747-762, 1998.
- 7 MAES, B. D. Gastric emptying flow curves separated from carbon-labeled octanoic acid breath test results. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.** v.275, G169-G175, 1998.
- 8 O'DONOVAN D.; FEINLE-BISSET C.; JONES K.; HOROWITZ M. Gastric Emptying. **Encyclopedia of Gastroenterology.** v. ?, 118-124, 2004.
- 9 MIRANDA, J. R. A., O. BAFFA, R.B. OLIVEIRA, e N. M. MATSUDA. "An AC susceptometer to study gastric emptying." **Med. Phys.** 19 (1992): 445-448.
- 10 MIRANDA, J. R. A., R. B. OLIVEIRA, P. L. SOUSA, F. J. H. BRAGA, e O. BAFFA. "A novel biomagnetic method to study gastric antral contractions." **Phys. Med. Biol.** 42 (1997): 1791-1799.

- 11 BAFFA, O., R. B. OLIVEIRA, J. R. A. MIRANDA, e L. E. A. TRONCON. "Analysis and development of a simple AC biosusceptometer for oro-caecal transit time measurements." **Med. Biol. Eng. Comput.** 33 (1995): 353-7.
- 12 R MORAES, R., L. A. CORÁ, M. F. AMÉRICO, R.B. OLIVEIRA, O. BAFFA, e J. R. A. MIRANDA. "Measurement of gastric contraction activity in dogs by means of AC biosusceptometry." **Physiol. Meas.** 24 (2003): 337-345.
- 13 CORÁ, L. A., et al. "Gastrointestinal transit and disintegration of enteric coated magnetic tablets assessed by ac biosusceptometry." **Eur. J. Pharm. Biopharm.** 27 (2006): 1-8
- 14 AMÉRICO, M.F., et al. "Validation of ACB in vitro and in vivo as a biomagnetic method for measuring stomach contraction." **Neurogastroenterol Motil.** 22 (2010): 1340-e374.
- 15 ANDREIS, U., M. F. AMÉRICO, L. A. CORÁ, R. B. OLIVEIRA, O. BAFFA, e J. R. A. MIRANDA. "Gastric motility evaluated by electrogastrography and alternating current biosusceptometry in dogs." **Physiol. Meas.** 29 (2008): 1023-1031.
- 16 REITZ, J. R., F. J. MILFORD, e R. W. CHRISTY. **Fundamentos da Teoria Eletromagnética.** 3ª. Rio de Janeiro: Campus, 1982.
- 17 BASTUSCHECK, C. M., e S. J. WILLIAMSON. "Technique for measuring the ac susceptibility of portions of the human body or other large objects." **Journal of Applied Physics.** 114 de Maio de 1985: 3896-3906.
- 18 PODCZECK, F., J. M. NEWTON, e K. YUEN. "The Description of the Gastrointestinal Transit of Pellets Assessed by Gamma Scintigraphy Using Statistical Moments." **Pharm. Res.** 12 (1995): 376-379.

Comitê de Ética

Todo o procedimento experimental relacionado com este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética de Experimentação Animal (CEUA) do Instituto de Biociência de Botucatu – UNESP e aprovado sob o protocolo de número 409-CEUA.