



Instituto de
Biociências de
Botucatu - UNESP



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
CAMPUS DE BOTUCATU**

**Título: ESTUDO DA MOTILIDADE GÁSTRICA EM RATAS PRENHES
DIABÉTICAS E NÃO DIABÉTICAS**

Aluno: Juliana Fernandes de Matos

Orientador: José Ricardo de Arruda Miranda

Monografia apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas – Modalidade Médica (ou Bacharel em Ciências Biomédicas).

Botucatu-SP

2012

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

Matos, Juliana Fernandes.

Estudo da motilidade gástrica em ratas prenhes diabéticas e não diabéticas / Juliana Fernandes de Matos. – Botucatu : [s.n.], 2012

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biomédicas) -
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José Ricardo de Arruda Miranda

Capes: 20702060

1. Sistema gastrointestinal – Motilidade – Tomografia. 2. Hormônios sexuais. 3. Rato como animal de laboratório. 4. Comprimidos (Medicina) – Desintegração. 5. Biomagnetismo.

Palavras-chave: Biosusceptometria; Motilidade gástrica; Prenhez.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder muita fé e perseverança para continuar lutando, vencendo todos os obstáculos e ter chegado até onde cheguei.

Agradeço ao apoio da minha família, sem essa base eu não seria a pessoa que sou hoje. Ao meu Pai, que sempre acreditou em mim, me apoiando e investindo na minha formação. A minha Mãe, que não está mais presente em minha vida, mas deve estar feliz por eu ter realizado um sonho. As minhas irmãs, que sempre me aconselharam e me guiaram para eu alcançar meus almejos. Ao meu companheiro Willians, que com muita paciência e carinho sempre esteve ao meu lado.

Agradeço a todos meus amigos, Amanda M. Della Coletta, Ana Beatriz M. V. da Rocha, Ana Carolina M. Omoto, André Tevez G.A. Freitas, Camila M. Tamaki, Carla de Moraes Machado, Cecilia P. Rodrigues, Natalia O. Belgate, Niele Dias Mendes e Priscila Kiyota, que me acompanharam todos esses anos, me apoiando e dando todo o suporte que eu necessitava. Obrigada por todas as conversas, conselhos e companheirismo, a amizade de todos me fez crescer muito como pessoa.

Agradeço ao meu Professor e aos meus colegas de departamento, que me acolheram com muito carinho e que me passaram muito conhecimento.

Obrigado a todas as pessoas que contribuíram para meu sucesso e para meu crescimento como pessoa. Sou o resultado da confiança e da força de cada um de vocês.

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”

C. C.

Sumário

1. Introdução.....	5
2. Objetivos.....	7
3. Materiais e métodos	8
3.1. Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC).....	8
3.2. Grupos Experimentais.....	9
3.3. Sequência Experimental.....	9
3.3.1 Implante cirúrgico de Eletrodo e de Marcador Magnético.....	9
3.3.2 Período de acasalamento	9
3.3.3 Período de prenhez.....	9
3.3.4. Registros da medida de motilidade gástrica	10
3.3.5 Registros esvaziamento gástrico	10
4. Resultados	11
5. Discussão.....	19
6. Conclusão	20
7. Bibliografia.....	21

RESUMO

Várias mudanças hormonais e fisiológicas que ocorrem durante a gravidez afetam diretamente a motilidade gastrointestinal (GI), no entanto, muito pouco se sabe sobre a relação entre as atividades elétricas e mecânicas do estômago e suas implicações. O objetivo desse trabalho foi comparar os hormônios sexuais femininos, com perfil de motilidade gastrointestinal, usando AC biosusceptometria (BAC), em ratas prenhes. Sete ratas fêmeas Wistar (pesando 250-350 g) foram utilizadas e todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética local de animal. A laparotomia foi realizada em ratas anestesiadas e um marcador magnético (3,5 mm de diâmetro e 3,0 mm de altura) foi implantado no estômago distal. Depois de 10 dias de recuperação, os ratos foram colocados para acasalar até a confirmação da gravidez. Animais alimentados foram anestesiados (mg, pentobarbital 30 / kg) e mantidos em decúbito dorsal para a gravação do sinal de 30 min com um sensor de BAC colocada sobre a superfície abdominal nos dias 0, 7, 14 e 20 de gestação. A análise estatística foi realizada pelo teste estatístico t de Student-Newman Keuls e um valor de P de 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. A frequência de contração do estômago foi de 74 ± 3 mHz, 67 ± 7 mHz, 59 ± 6 mHz ($p < 0,05$ vs dia-1), e 71 ± 5 mHz nos dias -0, -7, -14 e -20, respectivamente. Os valores de 44 ± 15 pg / mL, 31 ± 9 pg / mL, 25 ± 6 pg / mL, 22 ± 9 pg / mL nos dias -0, -7, -14 e -20, respectivamente, obtidas por 17β -estradiol não foram estatisticamente significativas. Os valores de progesterona foram de 13 ± 6 pg / mL, 54 ± 15 pg / mL, 127 ± 42 pg / mL ($p < 0,05$ vs dia-1), 22 ± 13 pg / mL no dia -0, -7, -14 e -20, respectivamente. A correlação linear (teste de Pearson) entre a diminuição da frequência gástrica e aumento dos níveis de progesterona foi de 80% ($p < 0,0000001$). Até então, as relações entre as alterações de motilidade e de hormônio não foram descritos em detalhe, porem com o referido trabalho pudemos demonstrar a alta correlação da concentração de progesterona e as alterações na motilidade gastrica durante a prenhez. Nossa técnica biomagnética oferece novas percepções sobre bradigastría provocadas pela progesterona durante a gravidez com precisão e sem interferir com a fisiologia normal.

Palavras Chave: Motilidade Gástrica, Prenhez, Biosusceptometria

ABSTRACT

Several hormonal and physiological changes that occur during pregnancy directly affect gastrointestinal motility (GI), however, very little is known about the relationship between the electrical and mechanical activities of the stomach and its implications. The aim of this study was to compare the female sex hormones, with profiles of gastrointestinal motility using AC biosusceptometry (BAC) in pregnant rats. Seven female Wistar rats (weighing 250-350 g) were used and all procedures were approved by the local Ethics Committee of animal. Laparotomy was performed on anesthetized rats and a magnetic marker (3.5 mm in diameter and 3.0 mm height) was implanted in the distal stomach. After 10 days of recuperation, the mice were put to mate until confirmation of pregnancy. Fed animals were anesthetized (mg pentobarbital 30 / kg) and kept supine for recording the signal with a sensor 30 min BAC placed on the abdominal surface on days 0, 7, 14 and 20 of gestation. Statistical analysis was performed by Student's t test statistical Newman-Keuls and a P value of .05 was considered statistically significant. The frequency of contraction of the stomach was $74 \text{ mHz} \pm 3$, $67 \pm 7 \text{ mHz}$, $59 \text{ mHz} \pm 6$ ($p < 0.05$ vs day -1) and $71 \pm 5 \text{ mHz}$ on days -0, -7, -14, and -20, respectively. The values of $44 \pm 15 \text{ pg / mL}$ and $31 \pm 9 \text{ pg / mL}$ $25 \pm 6 \text{ pg / mL}$, $22 \pm 9 \text{ pg / mL}$ on days -0, -7, -14 and -20, respectively, obtained by 17β - estradiol were not statistically significant. The values of progesterone were $13 \pm 6 \text{ pg / mL}$ at $54 \pm 15 \text{ pg / mL}$, $127 \pm 42 \text{ pg / mL}$ ($p < 0.05$ vs day-1), $22 \pm 13 \text{ pg / mL}$ on day -0, - 7, -14 and -20, respectively. A linear correlation (Pearson's test) between the lower frequency gastric and increased levels of progesterone was 80% ($p < 0.0000001$). Until then, the relationship between changes in motility and hormone were not described in detail, but with the work that we were able to demonstrate the high correlation between progesterone concentration and changes in gastric motility during pregnancy. Our biomagnetic technique offers new insights bradigastria caused by progesterone during pregnancy and accurately without interfering with normal physiology.

Keywords: Gastric Motility, Pregnancy, Biosusceptometry

1. Introdução

Durante a gestação ocorrem mudanças fisiológicas, bioquímicas e anatômicas extensas no organismo materno e estas alterações podem ser sistêmicas ou locais [DECHERNE; NATHAN, 2007]. Os vários sistemas, dentre estes, o trato gastrointestinal, sofrem mudanças progressivas que são essenciais para dar suporte e proteger o feto em desenvolvimento e para preparar o organismo materno para o parto [CARLIN; ALFIREVIC, 2008].

O trato gastrointestinal é afetado pela expansão do útero durante a gestação. Isto, em combinação com o aumento das pressões intragástricas e alterações mediadas pelo efeito da progesterona no músculo liso do esfíncter gastroesofágico, predispõe ao refluxo e à azia [VAN THIEL *et al.*, 1977]. Sintomas como náuseas e vômitos observados no primeiro trimestre ocorrem de 50% a 90% de todas as gestações [BARON *et al.*, 1993] e estão relacionados com o aumento da prevalência de disritmias gástricas de ondas lentas [STERN *et al.*, 1987]. A motilidade gástrica e intestinal também é afetada, causando diminuição no trânsito [PARRY *et al.*, 1970], retardo do esvaziamento gástrico [DAVISON *et al.*, 1970] e contribuindo para a sensação de distensão abdominal e constipação, que são sintomas comuns da gestação [CARLIN; ALFIREVIC, 2008]. A constipação é segundo apenas a náuseas como a queixa mais comum gastrointestinal na gravidez. Até 40% das mulheres sofrem sintomas de constipação em algum momento durante a sua gravidez [GARRET *et al.*, 2007].

O aumento dos níveis de gonadotrofina coriônica humana (hCG), progesterona e estradiol durante a gestação têm sido implicados [BARON *et al.*, 1993] na fisiopatologia desses distúrbios. Os níveis de estradiol aumentam no início da gestação, alcançam níveis máximos após a 5ª semana de gestação e aumentam discretamente durante o restante do período gestacional [SOULES *et al.*, 1980]. Da mesma forma, a progesterona também aumenta durante o primeiro trimestre e permanece elevada até o parto [JOHANSSON, 1969]. Particularmente, a elevação dos níveis de progesterona e alterações na motilidade gástrica têm sido associadas à náusea experimentada na gravidez [BARON *et al.*, 1993].

Durante o ciclo menstrual também foram observadas mudanças no trato gastrointestinal, como retardo no esvaziamento gástrico em mulheres na fase lútea do ciclo menstrual, quando há níveis mais elevados de estrogênio e progesterona. Algumas patologias também foram retratadas, como síndrome do intestino irritado, náuseas e saciedade precoce, todas aparecendo na fase lútea do ciclo [VERRENGIA *et al.*, 2011; ÖMER GÜNAL *et al.*, 2004; HEITKEMPER *et al.*, 2009].

Estudos em animais mostram que a progesterona tem efeitos inibitórios sobre a musculatura lisa gastrointestinal [FISHER *et al.*, 1978; SCHULZE, CHRISTENSEN, 1977; FILIPPONE *et al.*, 1983]. Além disso, a progesterona diminui a tensão de relaxamento do fundo gástrico [WANG *et al.*, 2003] e reduz a velocidade de propagação das ondas lentas gastrointestinais, possivelmente por diminuir o grau de acoplamento elétrico entre as células musculares lisas [BORTOFF, 1982], e a mudança na concentração desse hormônio pode ser a possível causadora de disritmia e náusea na prenhez [WALSH *et al.*, 1996].

Estudos têm mostrado que o estradiol diminui a motilidade gástrica e o trânsito intestinal [DATZ *et al.*, 1987; LEE *et al.*, 2001; CHANG, HEITKEMPER, 2002]. Alguns estudos relatam a diminuição do esvaziamento gástrico em tempos de hiperestrogenemia [GILL *et al.*, 1987; SHAH *et al.*, 2000] enquanto outros refutaram este achado [HOROWITZ *et al.*, 1985; MONÉS *et al.*, 1993; CABALLERO *et al.*, 1999]. Outro estudo experimental sugere que o esvaziamento gástrico é retardado pelo estrogênio, mas o tempo de trânsito gastrointestinal permanece inalterado [CHEN *et al.*, 1995]. Também é dada importância à influência da Progesterona no TGI, resultados de trabalhos indicam que a baixa concentração desse hormônio aumenta a motilidade do trato, e o aumento dessa concentração causa inibição [LIU, *et al.*, 2002]. Embora as evidências continuem a ser inconclusivas sobre os efeitos de flutuações fisiológicas nos níveis de estradiol sobre a motilidade gástrica, a maioria dos investigadores parecem concordar que estrógenos exógenos diminuem o esvaziamento gástrico em modelos animais. Diferentes mecanismos de ação têm sido sugeridos, incluindo a indução de liberação de óxido nítrico a partir de nervos não adrenérgicos e não colinérgicos do trato gastrointestinal [SHAH *et al.*, 2001], a supressão do receptor da colecistocinina (CCK) no estômago [WU *et al.*, 2002; YANG *et al.*, 2006], e mudanças nociceptivas mediadas por alterações vagais [KHASAR *et al.*, 2003].

Métodos empregando o biomagnetismo estudam os campos magnéticos gerados pelos organismos vivos ou por materiais magnéticos presentes no mesmo. Técnicas biomagnéticas são convenientes por não interferirem com a fisiologia normal do órgão, não utilizarem radiação ionizante e serem inócuos [CORÁ *et al.*, 2005]. A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) é uma técnica biomagnética que vem sendo utilizada devido às vantagens como baixo custo e boa sensibilidade. Esta técnica pode ser empregada com ração marcada com material magnético ou através de marcador fixado na serosa. A fixação de um marcador magnético à serosa do TGI possibilita o registro direto dos movimentos da parede do tubo digestivo, ou seja, das contrações [AMÉRICO, 2008]. Por princípio, as contrações mecânicas afastam o material do sensor posicionado na superfície abdominal, reduzindo a força eletromotriz registrada. Do mesmo modo, o relaxamento aproxima o marcador magnético dos sensores, o que, conseqüentemente, aumenta a detecção da força eletromotriz. Trata-se de uma técnica versátil, livre de radiação ionizante, não invasiva e que pode ser empregada sem intervenção anestésica, facilitando a experimentação *in vivo*. A BAC quando associada às técnicas usuais para o registro elétrico - como a Eletromiografia (EMG) e o EGG - proporcionará um modelo capaz de detalhar o perfil eletromecânico em condições normais e alteradas.

2. Objetivos

Nesta parte do trabalho foram realizados experimentos em ratas prenhes para analisar e caracterizar o perfil da motilidade gástrica e esvaziamento gástrico encontrada nessa condição.

3. Materiais e métodos

3.1. Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC)

Os sensores magnéticos podem ser considerados, basicamente, um par de transformadores com núcleo de ar, onde as bobinas externas funcionam como excitadoras e as internas como detectoras (arranjo coaxial). Cada par é separado por uma distância (linha de base) e disposto em uma configuração gradiométrica de primeira ordem, ou seja, enroladas em sentidos contrários de modo que os fluxos magnéticos concatenados em cada bobina sejam subtraídos, eliminando os ruídos ambientais e tornando-as mais sensíveis [CORÁ et al, 2005] (Fig. 1). Materiais ferromagnéticos como as ferritas (MnFe_2O_4) apresentam alta susceptibilidade magnética (χ), ou seja, respondem intensamente à aplicação de um campo magnético. Esses materiais são agrupados de acordo com a sua forma de apresentação em: traçadores magnéticos (partículas de material magnético dispersas em um meio) e marcadores (partículas contidas em uma forma farmacêutica sólida – comprimidos, cápsulas ou núcleo de ferrita) [CORÁ et al, 2003]. Além disso, fragmentos maiores, sólidos de ferrita podem, também, serem considerados excelentes marcadores magnéticos [AMÉRICO, 2008]. A ferrita é um material inerte que quando submetido a testes físico-químicos não teve suas propriedades modificadas na presença de ácido ou de base [CORÁ et al, 2006b]. Salientando que o campo magnético de 10 kHz empregado na BAC é de baixa intensidade, considera-se que esta técnica é inócua e não gerando nenhum efeito biológico mensurável.

Assim, na ausência de qualquer material magnético, o sensor permanece balanceado e nenhuma voltagem é detectada. Entretanto, a aproximação de qualquer material magnético provoca maior concatenação do fluxo magnético sobre a bobina detectora mais próxima, sendo que esse desbalanceamento no fluxo gera uma força eletromotriz (*fem*) de saída proporcional à massa e à distância entre o material e o sensor. Essa *fem* pode ser medida, digitalizada e registrada continuamente com o auxílio de um amplificador sensível à fase “Lock-in”, uma placa analógico/digital e um computador.

3.2. Grupos Experimentais

Foram utilizadas ratas adultas (linhagem Wistar) com 90 dias de idade, pesando 250-300g, provenientes do CEMIB - Unicamp e distribuídas em dois grupos, da seguinte forma:

Grupo Prenhez motilidade gástrica: sete (7) ratas

Grupo Prenhez esvaziamento gástrico: cinco (5) ratas

3.3. Sequência Experimental

3.3.1 Implante cirúrgico de Eletrodo e de Marcador Magnético

As ratas do grupo de motilidade gástrica foram anestesiadas com ketamina/xilazina (0,1 mg/Kg IM). A parede abdominal foi aberta por meio de laparotomia medial e um conjunto (eletrodo e marcador magnético) foi implantado na serosa gástrica. Cada conjunto foi constituído de um eletrodo tipo marca passo cardíaco (Ethicon - Johnson & Johnson) e um fragmento de 0,15 g de ferrita (marcador magnético - MnFe_2O_4). O fio do eletrodo foi conduzido por meio de tunelamento subcutâneo e exteriorizado através da pele por uma incisão no topo da cabeça.

3.3.2 Período de acasalamento

As ratas foram mantidas em gaiolas individuais e, no final da tarde, cada uma delas recebeu um rato macho para acasalamento. Na manhã subsequente, os machos foram retirados e os esfregaços vaginais das ratas foram coletados para análise microscópica. A presença de espermatozóides foi considerada dia 0 de prenhez.

3.3.3 Período de prenhez

Nas manhãs dos dias 0, 7, 14 e 20 de prenhez, após jejum de 12 horas, as ratas foram alimentadas de 2 g de ração. Após este período, foram realizados os registros das atividades elétricas e mecânicas do estômago. No 21º dia de prenhez

(termo), a coleta foi feita por procedimento anestésico seguido de dessangramento.

Todas as amostras de sangue foram coletadas em tubos Falcon secos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 10 min a 4°C para obtenção do soro. As amostras foram estocadas em freezer a -80°C para posterior dosagem de progesterona, estradiol e gonadotrofina coriônica através do método de quimioluminescência. Após a coleta de sangue no 21º dia de prenhez, as ratas foram submetidas à laparotomia para estudo do desempenho reprodutivo materno (número de implantações, fetos vivos e mortos, corpos lúteos e de mortes embrionárias).

3.3.4. Registros da medida de motilidade gástrica

As ratas foram anestesiadas com pentobarbital sódico (40 mg/kg – Intraperitoneal) e posicionadas em decúbito dorsal para aquisição dos registros. Eletrodos tipo agulhas arranjadas de modo diferencial foram colocadas na parede abdominal com um terra localizado na pata traseira direita para o registro do EGG. O sensor magnético foi posicionado sobre o abdome. Os eletrodos serão conectados ao sistema de aquisição de sinais elétricos (Biopac EGG100C). Os registros tiveram duração de uma hora e foram realizados, simultaneamente, com taxa de 20 Hz por um registrador multi-canais (Biopac MP100 System).

3.3.5 Registros esvaziamento gástrico

Nas manhãs dos dias 0, 7, 14 e 20 de prenhez, após jejum de 12 horas, as ratas foram alimentadas de 2 g de ração marcada com material ferro magnético (ferrita em pó). Após este período, foram realizados os registros do tempo de esvaziamento gástrico. No 21º dia de prenhez (termo), a coleta foi feita por procedimento anestésico seguido de dessangramento. As medidas de esvaziamento gástrico por biosusceptometria consistem em aferir com o sensor magnético a concentração da ração marcada ao longo do trato gastrointestinal durante um tempo de 5 horas, a partir do momento da ingestão do alimento. Durante esse período, temos dois parâmetros, o tempo de esvaziamento gástrico e o tempo de chegada no ceco, determinados pelas respectivas concentrações de material ferromagnético no

estômago e ceco. A seguir estão às quantificações feitas das medidas de esvaziamento em questão de tempo de esvaziamento gástrico (MGET) e tempo de chegada ao ceco (MCAT). A figura 1 ilustra a metodologia usada na avaliação do esvaziamento gástrico.

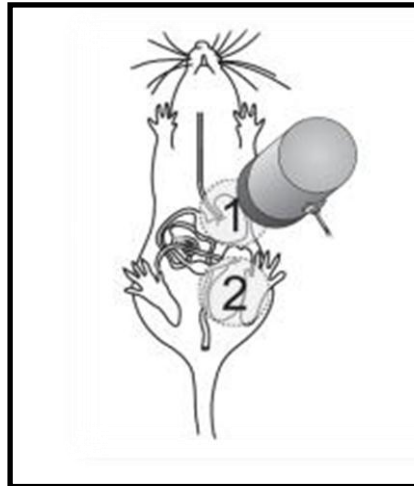


Figura 1- Ilustração da metodologia do esvaziamento gástrico.

4. Resultados

Obtivemos resultados de sete ratas do grupo prenhez motilidade e cinco do grupo prenhez esvaziamento gástrico, sendo que as medidas foram realizadas no dias 0, 7, 14 e 20 de prenhez. As medidas de motilidade consistem em avaliação da atividade mecânica e elétrica do estômago ao longo do tempo, utilizando a BAC, o EMG e o EGG. As medidas de esvaziamento avaliam o tempo de esvaziamento gástrico (MGET) e o tempo de chegada ao ceco (MCAT), fazendo uso da BAC.

As figuras 2, 3, e 4 ilustram medidas representativas dos resultados obtidos para ratas prenhes. Interpretando esses resultados, encontramos uma diminuição na frequência da atividade elétrica e mecânica, mais acentuada no dia 14 e tendência ao retorno no dia 21.

Durante a prenhez, apesar da queda gradativa das concentrações de 17β -estradiol, não houve diferença significativa entre os períodos analisados. Com relação às concentrações de progesterona, houve aumento significativo a partir do 7º

dia de gestação com pico máximo no 14º dia de prenhez e, na prenhez a termo houve retorno aos níveis do início da gestação.

Concomitantemente ao aumento das concentrações da progesterona, ocorreu uma diminuição de frequência na motilidade. As figuras 6 e 7 mostram a correlação entre a frequência de contração gástrica (Hz) e as concentrações de progesterona (ng/ml) e de 17β -estradiol (pg/ml), respectivamente. Houve uma correlação negativa significativa somente entre frequência de contração gástrica e concentrações de progesterona. A tabela 3 mostra os valores das concentrações dos hormônios em cada fase da gestação.

A tabela 1 mostra os dados de frequência obtidos para as ratas prenhes, nos dias zero, 7, 14 e 20. Considerando o dia zero como referência (controle), é nítida a modificação nos valores de frequência. Houve uma grande diminuição na frequência (bradigastria) do dia zero para o sétimo ($p<0.05$), acentuada no dia 14 ($p<0.05$), retornando a valores praticamente normais no dia 20 (sem diferença significativa). Diferente de alguns resultados anteriores, não foi observado arritmias, mas sim bradigastria. A tabela 2 resume os valores médios encontrados para os dois grupos e períodos de medidas, e a figura 5 ilustra um gráfico com as frequências médias durante as fases da prenhez.

A tabela 4 e a figura 8 representam dados do tempo médio de esvaziamento gástrico durante as quatro fases da prenhez. Foram utilizadas seis ratas nesse experimento e as médias desses dados resultaram em um padrão. No dia 0 de prenhez houve um tempo médio de esvaziamento curto ($p<0,05$), precedido de um aumento desse tempo médio nos dias 7 e 14 ($p<0,05$), e um retorno para um tempo médio mais curto no 20º dia.

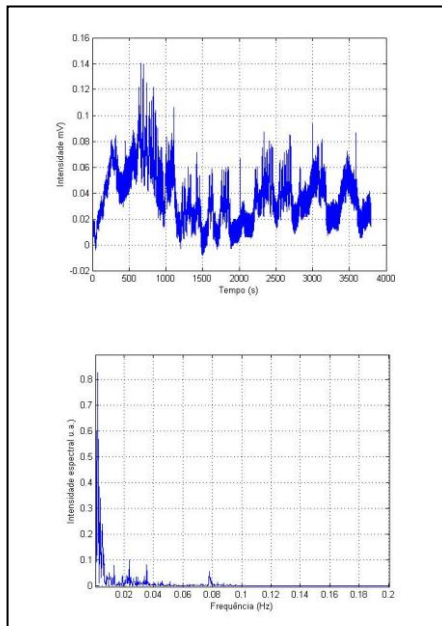


Figura 2- BAC ratas prenhes

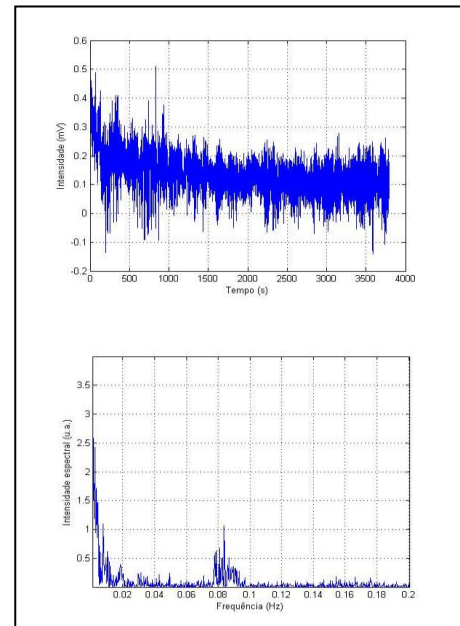


Figura 3- EMG ratas prenhes

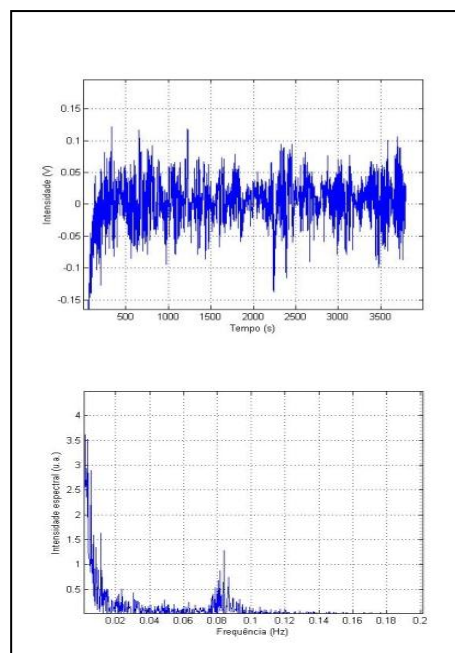


Figura 4- EGG ratas prenhes

Tabela 1. Valores das frequências e área sobre a curva obtida por BAC e EMG em ratas prenhes nos dias 0, 7, 14 e 21 do período de prenhez.

	Frequência de contração (mHz)		Somatório Área sobre a curva AUC	
Rata 3pm	BAC	EMG	Σ BAC	Σ EMG
0	79,0	81,0	1,07	0,37
7	61,7	59,2	1,46	0,42
14	58,6	58,6	1,07	0,55
20	76,7	77,0	1,23	0,46
Rata P1				
0	76,7	76,7	3,07	14,4
7	63,3	61,7	4,31	12,7
14	55,8	55,8	4,8	25,2
20	75,0	75,0	2,3	28,2
Rata P2				
0	70,8	71,6	1,28	20,5
7	67,5	68,3	3,66	29,1
14	51,6	55,0	7,9	27,6
20	69,2	69,2	9,0	23,9
Rata P3				
0	71,7	71,7	3,5	7,5
7	58,3	59,2	6,7	12,12
14	54,2	54,2	11,12	45,9
20	71,7	71,7	6,6	26,4
Rata P4				
0	75,8	75,8	1,18	23,7
7	71,7	71,7	18,5	6,1
14	58,3	58,3	7,8	35,4
20	66,7	66,7	6,8	1,9
Rata P5				
0	64,2	64,2	2,9	12,4
7	64,2	64,2	3,5	9,6
14	67,5	64,2	2,8	1,1
Rata P7				
0	65,8	65,8	2,0	0,9
7	51,7	54,7	3,0	0,63
14	62,5	64,0	2,3	16,3
20	76,7	78,0	1,5	18,0
Rata				

P9				
0	64,2	65	8,1	1,2
7	51,7	54,2	3,1	2,1
14	62,0	64,0	2,1	16,5
20	76,6	69,2	1,6	18,0
Rata P14				
0	80,0	80,0	9,7	48,0
7	78,0	77,5	5,1	19,8
14	72,5	72,5	6,0	27,7
20	80,0	80,0	6,7	40,0
Rata P15				
0	70,8	70,8	19,0	22,0
7	60,0	60	2,0	20,0
14	55,9	53,5	1,2	17,0
20	65,8	62,5	23,0	15,6

Tabela 2. Frequência de contração gástrica no estado alimentado obtida pela BAC e EMG em ratas durante a prenhez.

Frequência (Hz)	
Dias de Prenhez	
0	0.0743 ± 0.00378 a
7	0.06698 ± 0.00718 b
14	0.05875 ± 0.00687 b
20	0.07139 ± 0.00539 a

Valores expressos como média ± desvio padrão.

$p < 0.05$ – letras diferentes representam diferença significativa entre os momentos analisados (Teste de *Student Newman Keuls*).

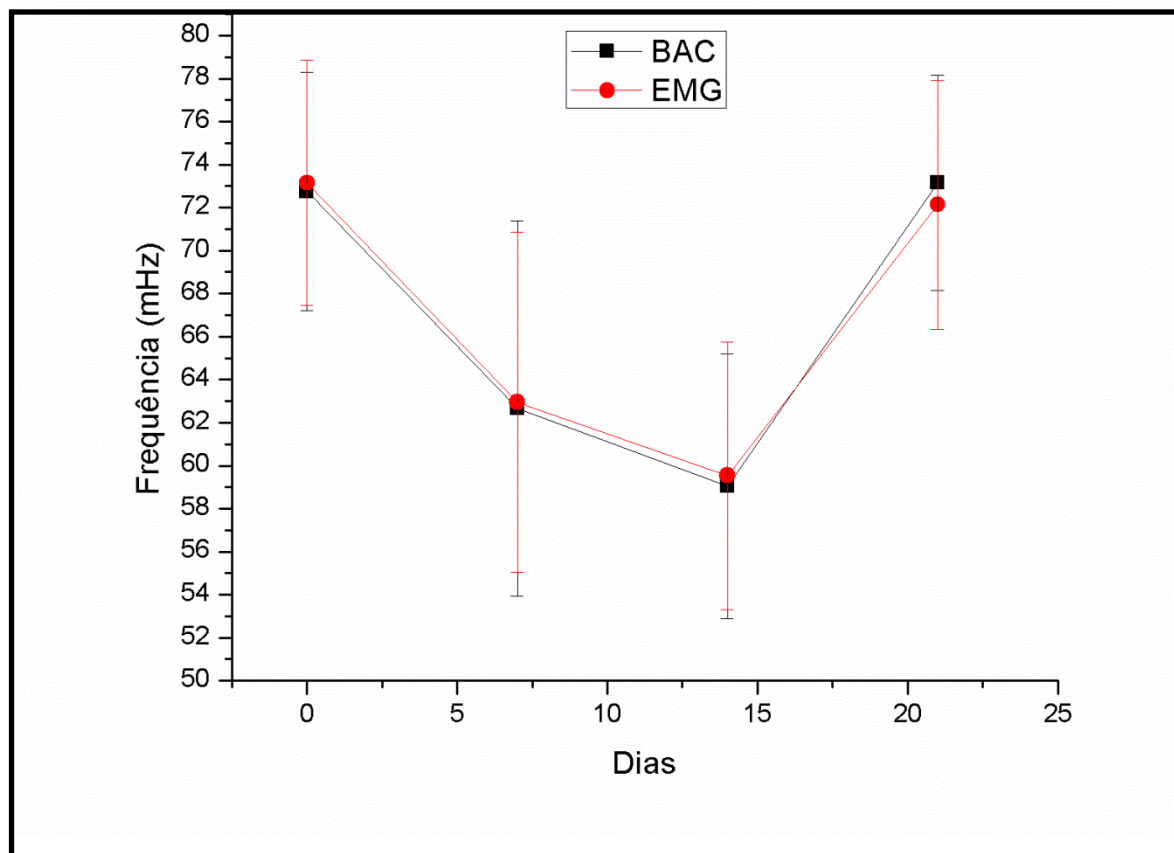


Figura 5 – Gráfico com as frequências médias da BAC e EMG das ratas durante as 4 fases da prenhez.

Tabela 3. Concentração de 17- β Estradiol e Progesterona no soro de ratas durante a prenhez.

Dias da prenhez	17- β Estradiol (pg/mL)	Progesterona (ng/mL)
0	44,3 $\pm$ 15,2 b	13,3 $\pm$ 6,3 a
7	31,2 $\pm$ 8,9 b	54,2 $\pm$ 15,1 b
14	25,0 $\pm$ 6,0 b	127,3 $\pm$ 41,7 c
20	22,4 $\pm$ 8,7 b	21,7 $\pm$ 13,4 a

Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão.

$p < 0.05$ – letras diferentes representam diferença significativa entre os momentos analisados (Teste de Student Newman Keuls).

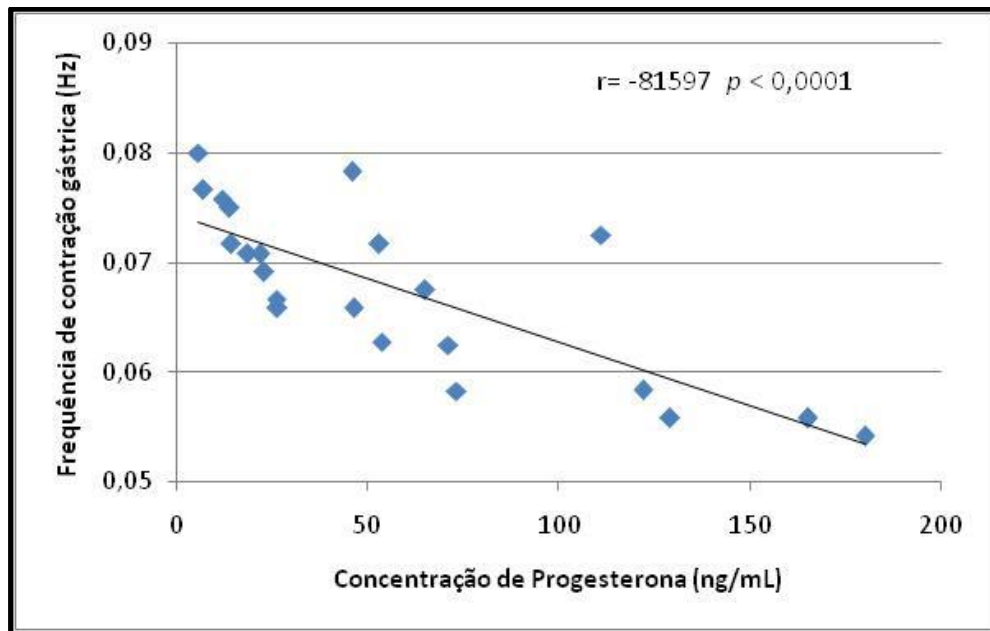


Figura 6-Correlação linear entre frequência de contração gástrica e concentração de progesterona (Teste de Pearson).

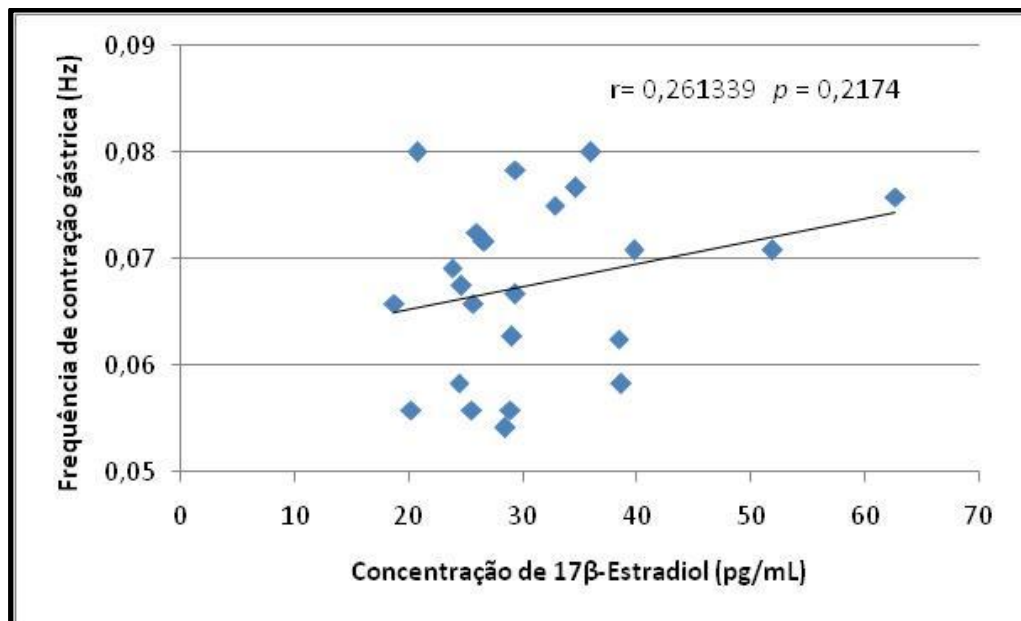


Figura 7- Correlação linear entre frequência de contração gástrica e concentração de 17β-estradiol (Teste de Pearson).

TABELA 4. Valores do tempo médio de esvaziamento gástrico durante as fases da prenhez.

Tempo médio de esvaziamento gástrico (min)				
	Dia 0 a	Dia 7 b	Dia 14 b	Dia 20 a
Rata 1	180	220	200	120
Rata 2	140	225	195	140
Rata 3	170	210	170	135
Rata 4	160	210	230	130
Rata 5	130	160	210	135
Rata 6	140	225	225	135

$p < 0.05$ – letras diferentes representam diferença significativa entre os momentos analisados (Teste de *Student Newman Keuls*).

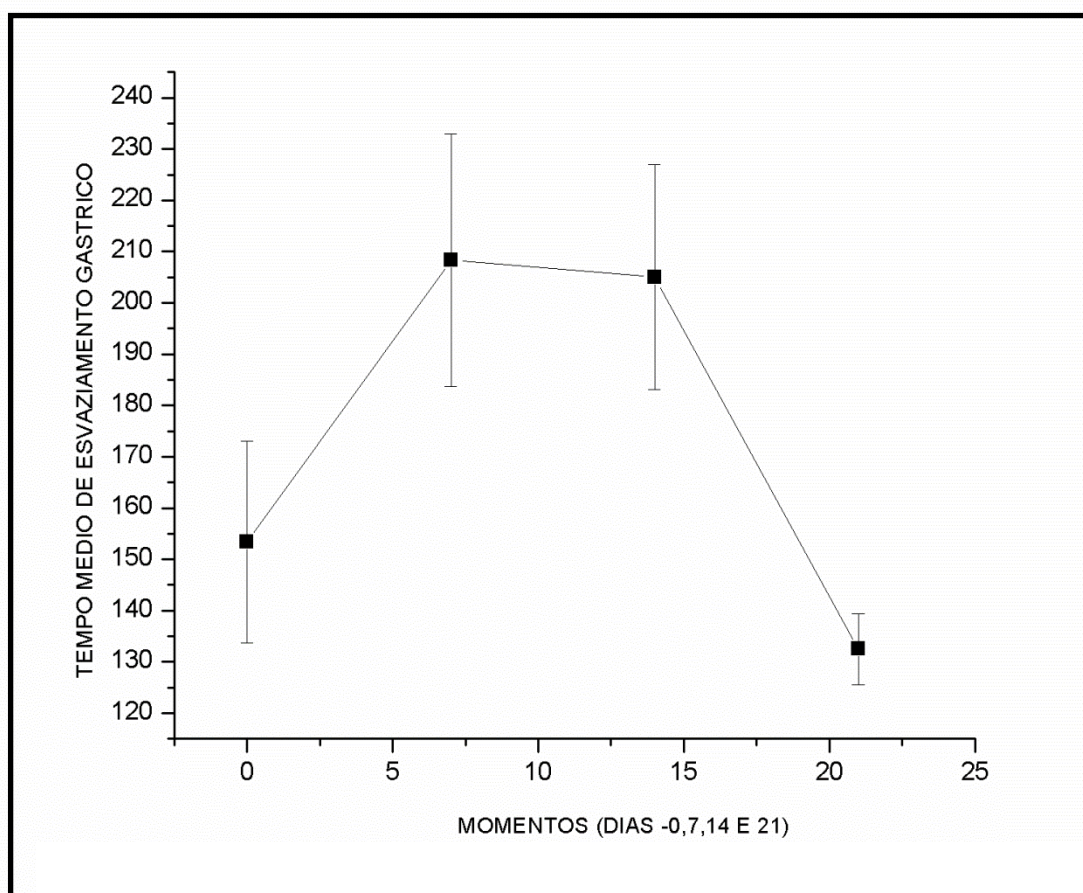


Figura 8 – Gráfico do tempo médio de esvaziamento gástrico durante as fases da prenhez.

5. Discussão

As alterações na motilidade assim como no trânsito e no esvaziamento gástrico são encontradas em perfis elétricos e mecânicos durante o período gestacional [PARRY *et al.*, 1970; DAVISON *et al.*, 1970]. Existem outras fisiopatologias no trato gastrointestinal que podem aparecer tanto na gestação assim como no ciclo menstrual de mulheres [CHANG L *et al*, 2002]. Arritmias e disfunções na motilidade são muito comuns na gravidez e podem ser relacionados com náuseas, enjôos e azia [WALSH JW *et al*, 1996]. Em nosso estudo, esses parâmetros foram analisados em termo de frequência, amplitude e perfil de sinal e associados com perfis hormonais e reprodutivos nos grupos do estudo (não prenhes).

Analisando os resultados obtidos, em termos de frequência, encontramos uma diminuição da motilidade nas ratas prenhes. Na tabela 1- podemos observar uma acentuada diminuição da motilidade gástrica a partir do sétimo dia de gestação. No dia zero de gestação, que corresponde ao primeiro dia após o acasalamento, as alterações fisiológicas devido à prenhez ainda não ocorreram e, somente a partir do 4º dia de gestação, quando o embrião se implanta é que estas mudanças são observadas [Dey and Johnson, 1986].

Associando a frequência de contração com as dosagens hormonais, durante o período de prenhez, observamos uma forte correlação do aumento da progesterona em relação à presença de bradigastria (diminuição da frequência de contração fásica) principalmente por levar a uma disritmia das Slow-Waves [Mitchell BF *et al*, 1995; Chuan-Tong Liu *et al*, 2002; Walsh, Jonh W. *et al* 1996]. Desta forma, os dados obtidos neste estudo nos dá subsídios para afirmar que a progesterona foi o principal hormônio responsável pelas alterações de motilidade gástrica observadas durante a prenhez [Fang Wang *et al*, 2003; Mitchell BF *et al*, 1995; Shoji H *et al*, 2000]. O nível de estrógeno, apesar de sua diminuição ao longo da prenhez, não apresentou diferença significativa entre os momentos analisados e, parece ser pouco relevante na alteração da motilidade. Este resultado não era esperado, visto que outros trabalhos da literatura ligam este hormônio com alterações na motilidade

gastrointestinal [Chen TS et al, 1995; Hutson WR et al, 1989]. Diferentes metodologias foram empregadas nesses trabalhos, como exemplo, administração de hormônios em ratas ovariectomizadas separadas em grupos que recebiam apenas estradiol, apenas progesterona ou ambos [Tseng-Shing Chen et al, 1995]. Os estudos não enfatizaram a progesterona como causa principal das alterações, assim como não há trabalhos que mostram as alterações da concentração desse hormônio durante as fases do ciclo estral (não prenhe), e como pode estar relacionado com motilidade, esvaziamento e trânsito gastrointestinal.

Há estudos que mostram o envolvimento de receptores de progesterona e estradiol com a maior ou menor presença desses hormônios e uma possível alteração nas células do estômago [Milena Saqui-Salces et al, 2008], assim como mudanças na atividade mioelétrica das células de músculo liso do trato gastrointestinal [Parkman HP et al, 1993].

6. Conclusão

Mecanismos elucidando como exatamente os hormônios da prenhez agem sobre o trato gastrointestinal ainda são obscuros, porém com o presente estudo foi possível esclarecer a dominância da progesterona como causador da bradigastria em ratas prenhes. As técnicas de biosusceptometria associada com eletromiografia e eletrogastrografia mostraram-se eficientes na obtenção de dados referentes aos perfis elétricos e mecânicos, assim como versáteis, não invasivos e de fácil experimentação *in vivo*.

7. Bibliografia

- DeCherue, A.H.; Nathan, L.C. Diagnosis and treatment, obstetrics and gynecology. Lange Medical Books/McGraw-Hill 10th ed. New York , 2007.
- Carlin, A.; Alfirevic, Z. Physiological changes of pregnancy and monitoring. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology; 22(5):801-23; 2008.
- Garret, C.M.B.; Diarmuid O'Donoghue M.D. Constipation and pregnancy. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology Vol. 21, No. 5, pp. 807–818, 2007.
- Van Thiel, D.H.; Gavalier, J.S.; Joshi, S.N.; Sara, R.K. Stremple J. Heartburn of pregnancy, Gastroenterology; 72:666–8, 2007.
- Baron, T.H.; Ramirez, B.; Richter, J.E. Gastrointestinal motility disorders during pregnancy. Ann Intern Med. 118(5):366-75,1993.
- Stern, R. M.; Koch, K.L.; Stewart, W.R.; Vasey, M. W. Electrogastrography: current issues in validation and methodology. Psychophysiology 24: 55-64,1987.
- Soules, M. R.; Hughes, C.L.; Garcia, J.A.; Livengood, C.H.; Prystowsky, M.R.; Alexander, E. Nausea and vomiting of pregnancy: role of human chorionic gonadotropin and 17-hydroxyprogesterone. Obstet. Gynecol. 55: 696-700,1980.
- Fisher, R.S.; Roberts, G.S.; Grabowski, C.J.; Cohen, S. Inhibition of lower esophageal sphincter circular muscle by female sex hormones. Am. J. Physiol. 34:243-7,1978.
- Corá, L.A.; Romeiro, F.G.; Stelzer, M.; Américo, M.F.; Oliveira, R.B.; Baffa, O.; Miranda, J.R.A. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. Adv Drug Deliv Rev.57:1223–41,2005.
- Américo, M.F. Desenvolvimento de método para o estudo da motilidade gastrintestinal no cão empregando a Biosusceptometria de Corrente Alternada

- (BAC). 111 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.
- Verrengia, M.; Sachdeva, P.; Gaughan, J.; Fisher, R.S.; Parkman, H.P. Variation of symptoms during the menstrual cycle in female patients with gastroparesis. *Neurogastroenterol Motil*; 23, 625-e254, 2003.
- Parry, E.; Shields, R.; Turnbull, A.C. Transit time in the small intestine in pregnancy, *J Obstet Gynaecol Br Commonw* 77 , pp. 900–901, 1970.
- Davison, J.S.; Davison, M.C.; Hay, D.M. Gastric emptying time in late pregnancy and labour. *J Obstet Gynaecol Br Commonwealth*; 77:37–41, 1970.
- Chang, L.; Heitkemper, M.M. Gender differences in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*; 123(5): 1686-1701, 2002.
- Walsh JW, Hasler WL, Nugent CE, Owyang C. Progesterone and estrogen are potencial mediators of gastric slow wave dysrhythmias in nausea of pregnancy. *Am J Physiol*; 270: G506-14, 1996.
- Wang, F.; Zheng, T.Z.; Li, W.; Qu, S.Y.; He, D.Y. Action of progesterone on contractile activity of isolated gastric strips in rats. *World J Gastroenterol*.;9:775-8, 2003.
- Bortoff, A. Progesterone reduces slow wave propagation velocity and decrease electrical coupling between intestinal muscle cells. In: Weinbeek M. *Motility of Digestive tract*. New York: Raven; 445-50, 1982.
- Datz, F.L.; Christian, P.E.; Moore, J. Gender-related differences in gastric emptying. *J Nucl Med*.;28:1204-7, 1987.
- Gill, R.C.; Murphy, P.D.; Hooper, H.R.; Bowes, K.L.; Kingma, Y.J. Effect of the menstrual cycle on gastric emptying. *Digestion*.;36:168–74, 1987.
- Horowitz, M.; Maddern, G.J.; Chatterton, B.E.; Collins, P.J.; Petrucco, O.M.; Seamark, R.; Shearman, D.J. The normal menstrual cycle has no effect on gastric emptying. *Br J Obstet Gynaecol*.;92:743–6, 1985.

- Chen, T.S.; Doong, M.L.; Chang, F.Y.; Lee, S.D.; Wang, P.S. Effects of sex steroid hormones on gastric emptying and gastrointestinal transit in rats. *Am J Physiol.*;268:G171–6, 1995.
- Liu, C.Y.; Chen, L.B.; Liu, P.Y.; Xie, D.P.; Wang, P.S. Effects of progesterone on gastric emptying and intestinal transit in male rats. *World J Gastroenterol.*; 8(2); 338-341, 2002.
- Shah, S.; Nathan, L.; Singh, R.; Fu, Y.S.; Chaudhuri, G. E2 and not P4 increases NO release from NANC nerves of the gastrointestinal tract: implications in pregnancy. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*; 208:R1554, 2001.
- Wu, C.L.; Hung, C.R.; Chang, F.Y.; Pau, K.Y.; Wang, P.S. Involvement of cholecystokinin receptor in the inhibition of gastrointestinal motility by estradiol in ovariectomized rats. *Scand J Gastroenterol.*;37:1133–9, 2002.
- Khasar, S.G.; Reichling, D.B.; Green, P.G.; Isenberg, W.M.; Levine, J.D. Fasting is a physiological stimulus of vagus-mediated enhancement of nociception in the female rat. *Neuroscience.*;119:215–21, 2003.
- Ömer, G.*; Bozkurt, †A.; ‡ DENİZ, M.; SUNGUR, † M.; BERRAK, Y. E.†. Effect of sex steroids on colonic distension-induced delay of gastric emptying in rats. *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* **19**, 975–98, 2004.
- Heitkemper, M.M.; Chang, L. Do Fluctuations in Ovarian Hormones Affect Gastrointestinal Symptoms in Women With Irritable Bowel Syndrome?; *Gender Medicine/vol. 6*, Theme Issue, 2009.