



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



AVALIAÇÃO MULTINSTRUMENTAL EM MODELO ANIMAL DAS ATIVIDADES CONTRÁTEIS DO ESTÔMAGO E DO INTESTINO DELGADO

EDNALDO ALEXANDRE ZANDONÁ

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração *Biologia Celular Estrutural e Funcional*.

José Ricardo de Arruda Miranda

**BOTUCATU – SP
2017**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"Julio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

AVALIAÇÃO MULTINSTRUMENTAL EM MODELO ANIMAL
DAS ATIVIDADES CONTRÁTEIS DO ESTÔMAGO E DO
INTESTINO DELGADO

EDNALDO ALEXANDRE ZANDONÁ

JOSÉ RICARDO DE ARRUDA MIRANDA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração *Biologia Celular Estrutural e Funcional*.

José Ricardo de Arruda Miranda

**BOTUCATU – SP
2017**

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

Zandoná, Ednaldo Alexandre.

Avaliação multinstrumental em modelo animal das atividades contráteis do estômago e do intestino delgado / Ednaldo Alexandre Zandoná. - Botucatu, 2017

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José Ricardo de Arruda Miranda
Capes: 20903006

1. Biosusceptometria de Corrente Alternada. 2. Sistema gastrointestinal - Motilidade. 3. Estômago. 4. Intestinos.

Palavras-chave: Biosusceptometria de Corrente Alternada; Motilidade Intestinal; Motilidade gástrica; Pletismômetro; Transdutor de força.

AGRADECIMENTOS

Ao Grande Arquiteto, por me conceder a chance de uma nova existência.

"Deus nos concede, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo. Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta."

(Chico Xavier)

À minha esposa Ana Lúcia e aos meus filhos Vincenzo e Lorenzo, por sempre estarem ao meu lado, apoiando e incentivando-me. Sem eles, essa jornada não seria possível.

"É apenas com o coração que se pode ver direito; o essencial é invisível aos olhos."

(Antoine De Saint Exupery)

Aos Professores Dr. José Ricardo de Arruda Miranda e Dr^a. Diana Pina, pelos sábios ensinamentos, momentos de descontração, paciência e dedicação.

"Sábio não é o homem que revela todas as coisas e sim aquele que motiva aprendizagem."

(Chei Ai Min)

Aos meus amigos do Laboratório de Biomagnetismo do Instituto de Biociências de Botucatu (IBB-UNESP), os quais nunca me negaram ajuda. Meu reconhecimento!

"A melhor parte da vida de uma pessoa está nas suas amizades."

(Abraham Lincoln)

A todos que de uma forma ou outra tornaram isso possível.

Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.

(Chico Xavier)

“A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-Configuração de um sistema BAC.....	13
Figura 2 - Pletismômetro.....	15
Figura 3 - Representação gráfica do sistema de medida do Pletismômetro.....	16
Figura 4 – Um dos <i>Strain Gages</i> utilizados nesse trabalho.....	17
Figura 5 - Representação gráfica de um strain gage.....	17
Figura 6 - Delineamento dos experimentos no estudo da atividade contrátil do intestino delgado.....	22
Figura 7 - Representação gráfica da Instrumentação utilizada na quantificação da atividade gástrica.	23
Figura 8 - Padrão dos sinais obtidos simultaneamente pela BAC e Pletismômetro, na quantificação.....	25
Figura 9 - Correlação Linear entre BAC e Pletismômetro para atividade tônica do estômago.....	26
Figura 10 - Gráfico de Bland-Altman: análise da concordância entre os métodos BAC e pletismometria para a oscilação tônica estomacal.....	26
Figura 11 - Alteração no aspecto visual do sinal, após administração do cloreto de betanecol.....	27
Figura 12 - Gráfico de Bland-Altman: análise da concordância entre os métodos BAC e Pletismometria.....	28
Figura 13 - Gráfico de Bland-Altman: análise da concordância entre os métodos BAC e Período posterior à administração de betanecol.	29
Figura 14 - Delineamento dos experimentos no estudo da atividade contrátil do intestino	33
Figura 15 - Representação gráfica da Instrumentação usada no estudo dos segmentos intestinais. Fonte: Adaptado de (Americo, Marques et al., 2010).....	34
Figura 16 - Frequência contrátil proveniente do estômago.	36
Figura 17 - Padrão dos sinais obtidos simultaneamente por BAC e SG no duodeno....	37
Figura 18 - Padrão dos sinais obtidos simultaneamente por BAC e SG no Jejuno.....	37
Figura 19 - Padrão dos sinais obtidos simultaneamente por BAC e SG no Íleo.	38
Figura 20 - Gráficos de correlação dos dados obtidos através da BAC e SG, para o duodeno, jejuno e íleo.....	39

Figura 21 - Gráficos de Bland-Altman: análise da concordância entre os métodos BAC e SG para os os	40
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Frequências obtidas nas quantificações simultâneas através da BAC e do Pletismômetro.....	24
Tabela 2 - Frequências obtidas nas quantificações simultâneas através da BAC e do Pletismômetro.....	28
Tabela 3 - Frequências obtidas nas quantificações simultâneas dos diferentes segmentos do intestino delgado através da BAC e do <i>Strain Gage</i> (SG).	35

Sumário

Resumo	6
1. Introdução.....	7
2. Fundamento Teóricos	13
2.1. Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC).....	13
2.2. Plestismômetro	15
2.3. Transdutor de força - Strain Gage	16
2.4. Cloreto de Betanecol	18
3. Objetivos.....	19
4. Metodologia.....	20
4.1. Estudo da oscilação tônica do estômago proximal.....	20
4.1.1. Animais.....	20
4.1.2. Procedimento cirúrgico.....	21
4.1.3. Delineamento Experimental	21
4.1.4. Aquisição de Medidas	22
4.1.5. Processamento de sinais	23
4.1.6. Análise Estatística.....	24
4.1.7. Resultados.....	24
4.1.8. Discussão	29
4.2. Estudo da atividade contrátil do intestino delgado.....	31
4.2.1. Animais.....	31
4.2.2. Implantação cirúrgica de marcador magnético e Strain gage.....	31
4.2.3. Delineamento experimental.....	32
4.2.4. Aquisição de Medidas	33
4.2.5. Processamento de sinais	34
4.2.6. Análise Estatística.....	35
4.2.7. Resultados.....	35

4.2.8.	Discussão	41
5.	Conclusão	43
6.	Referências	44

Resumo

Atividades motoras gástricas e intestinais representam um complexo grupo de funções essenciais à vida, sendo o estudo de suas características objeto de grande interesse da comunidade científica.

Estudos sobre essas atividades foram intensificados em decorrência da elevada prevalência de indivíduos com sintomas atribuíveis às anormalidades dessas funções. Além disso, uma vez que os mecanismos das disfunções motoras do trato gástrico e intestinal ainda não se acham plenamente esclarecidos, faz-se necessária a busca de novas abordagens.

Várias metodologias têm sido empregadas na avaliação dos parâmetros contráteis da motilidade gástrica e intestinal – uso de *strain gage*, métodos barométricos, elétricos e cintilográficos. A biosusceptometria de corrente alternada é um método alternativo eficaz e que apresenta grandes vantagens em relação aos demais e nesse trabalho foi comparada a técnicas consideradas padrão na avaliação da oscilação tônica do estômago e dos diferentes trechos do intestino delgado.

Os resultados apresentaram valores fortemente correlacionados e concordantes entre si, permitindo quantificar a atividade tônica e o espectro de frequências predominantes nos diferentes segmentos do intestino delgado.

Este trabalho aplicou uma metodologia eficiente na avaliação da oscilação tônica do estômago e do espectro de frequências predominantes no duodeno, jejuno e íleo.

Palavras-chave: biosusceptometria de corrente alternada, Plestimógrafo, Strain Gage, motilidade gástrica e motilidade intestinal

1. Introdução

A Organização Mundial de Saúde aponta que as doenças do trato gastrointestinal são umas das principais causas de óbito no mundo (Organização Mundial Da Saúde, 2014). Nos Estados Unidos, estima-se que doenças do trato gastrointestinal afetem aproximadamente 70 milhões de pessoas, com uma mortalidade aferida no ano de 2009 em torno de 245 mil óbitos acarretando custos da ordem de 141 bilhões de dólares destinados à hospitalizações, tratamento e prevenção (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2014).

No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, doenças do aparelho digestivo são umas das principais causas de óbitos da população brasileira, sendo responsáveis por aproximadamente 6% de todos os óbitos no país (54.495 pessoas) (Ministério Da Saúde, 2014).

De fato, o trato gastrointestinal é essencial para a vida devido à assimilação de nutrientes por meio de sua especialização em processos de secreção, digestão e absorção (Americo, Marques *et al.*, 2010). Seus quatro segmentos principais – esôfago, estômago, intestino delgado e cólon – apresentam variações em termos de função fisiológica, pH, natureza do conteúdo intraluminal, extensão e superfície absorptiva (Mouly e Paine, 2003).

A motilidade – atividade muscular dos segmentos que compõem o tubo digestivo – é um processo integrado do qual fazem parte a atividade mioelétrica e contrátil, o tônus muscular e a complacência, que resultam na propulsão dos conteúdos através dos referidos segmentos, formando assim o trânsito gástrico e intestinal (Hansen, 2003).

O estômago é responsável pela trituração, mistura, armazenamento e controle do trânsito do alimento para o intestino, sendo esses mecanismos controlados por atividades neuro-hormonais e indiretamente por processos eletromecânicos.

Funcionalmente, o estômago pode ser dividido em duas regiões distintas – distal e proximal. Em termos mecânicos, o estômago distal apresenta uma atividade contrátil de três (3) ciclos por minuto (c.p.m.), ditas contrações fásicas, originárias de atividades elétricas do corpo do estômago que se propagam em direção ao antro, as quais são responsáveis pela redução do tamanho das partículas ingeridas e mistura do bolo alimentar, favorecendo assim o esvaziamento gástrico. Já a atividade tônica, presente praticamente apenas na região fúndica (proximal), associa-se a acomodação das refeições, através da distensão e relaxamento gástricos, devido ao comportamento das fibras musculares lisas dessa região. (Americo, Marques *et al.*, 2010). De fato, supõe-se que essa oscilação tônica, seja produzida pela musculatura do estômago proximal, na forma de uma contração cíclica, sustentada, com frequência em torno de 1 ciclo por minuto (cpm) . (Azpiroz e Malagelada, 1984; Azpiroz, Ortiz Nolasco *et al.*, 1985; Nguyen, Fraser *et al.*, 2007) .

A origem da oscilação tônica ainda não está bem elucidada, carecendo de maiores elementos, a fim de se encontrar marcapassos mais consistentes para essa atividade. A própria oscilação tônica ainda deve ser melhor estudada, visto grande parte dos estudos sobre motilidade gástrica acabarem focando apenas a atividade fásica, seja pela dificuldade em detectar-se a atividade tônica, seja pelo emprego de filtros com frequência de corte superior a oscilação tônica, o que acaba por minimizar sua intensidade.

Drogas procinéticas são frequentemente utilizadas nos estudos da motilidade gastrointestinal, no intuito de melhor compreender a fisiologia desses órgãos e extrapolar os resultados de para área clínica (Malagelada, Rees *et al.*, 1980; Cellini, Dinovo *et al.*, 2011). O Cloreto de Betanecol é uma dessas drogas, cujos efeitos no trato gastrointestinal consistem no aumento das frequências contráteis do estômago e de suas amplitudes (Parkman, Hasler *et al.*, 2004; Sousa, 2016).

Por sua vez, o intestino delgado subdivide-se em duodeno, jejuno e íleo, correlacionados respectivamente aos seus terços proximal, medial e distal; e tem como principal função o processamento, e absorção de nutrientes que deixam o estômago, promovendo a mistura dos vários componentes enzimáticos envolvidos numa eficiente digestão, propiciando as movimentações segmentar e aboral do conteúdo intestinal ao longo dos diferentes estágios de absorção (Thomson, Keelan *et al.*, 2001).

Os padrões de contrações presentes no intestino podem ser segmentares ou propulsivos. Contrações propulsivas ou peristálticas são responsáveis pela movimentação do conteúdo intestinal no sentido aboral. Já as segmentares são responsáveis pela mistura e circulação local do conteúdo intestinal, facilitando assim a absorção.

A motilidade do intestino delgado é influenciada, entre outros fatores, pelas propriedades dos músculos lisos; nervos entéricos, nervos extrínsecos; e liberação local ou circulatória de substâncias reguladoras (Johnson, 2014). Os dois principais controladores, células intersticiais de Cajal (*Interstitial Cells of Cajal – ICC*) e o sistema nervoso entérico (SNE), são essenciais para o padrão motor normal ocorrer. Porém suas estruturas e funções estão interligadas tornando assim o controle da motilidade e a fisiopatologia da dismotilidade muitas vezes difícil de decifrar (Huizinga, Martz *et al.*, 2011).

No humano, a frequência contrátil no duodeno é regulada em doze (12) ciclos por minuto (c.p.m.), declinando ao longo do intestino delgado, chegando a nove (9) c.p.m. no íleo distal (Quigley, 1996).

Caruolo (1990) observou frequências contráteis nos diferentes segmentos do intestino delgado de ratos, caracterizando-as em trinta (30) c.p.m. no duodeno, vinte e quatro (24) c.p.m. no jejuno e dezoito (18) c.p.m. no íleo, estabelecendo assim um padrão decrescente ao longo dos diferentes trechos do intestino delgado. Wang, Lammers *et al.*

(2005) verificaram que a frequência duodenal de ratos normais apresenta média de 35,5 c.p.m., com picos de 42,1 c.p.m. Lammers, Al-Bloushi, *et al.* (2011) registrou 23 c.p.m. para contração do duodeno. Bueno, Ferre *et al.* (1981) encontrou 20,6 c.p.m. no jejuno.

Embora várias metodologias tenham sido empregadas para monitorar a atividade do trato gastrointestinal, as abordagens mais comuns são aquelas baseadas em registros elétricos e mecânicos (Martinez-De-Juan, Saiz *et al.*, 2000). As técnicas comumente utilizadas na prática clínica – cintilografia e radiografias seriadas com marcadores radiopacos - são empregadas principalmente para determinar o esvaziamento gástrico e o tempo de trânsito gastrointestinal. Estas técnicas são semi-quantitativas, com baixa resolução espacial e demandam o emprego de radiação ionizante (Camilleri e Ford, 1998).

Por sua vez, transdutores de força - “strain-gage” – também podem ser implantados nas mucosas estomacal e/ou intestinal, permitindo assim avaliar a atividade de contração desses órgãos, tornando-os num método alternativo de estudo do trato gastrointestinal, muito embora apresente certas desvantagens, tal como uma possível insensibilidade à pequenas contrações (Huizinga e Daniel, 1986).

Em razão do conhecido acoplamento da atividade elétrica com a motora, os métodos elétricos também têm sido empregados, na tentativa de prover um maior entendimento da motilidade gástrica e intestinal. De fato, considerando estômago, a eletrogastrografia, por si só, já proporciona subsídios para a compreensão da atividade de contração gástrica (Parkman, Hasler *et al.*, 2003). No entanto, parâmetros elétricos não são bons indicativos de contração em todos os segmentos do trato gastrointestinal (Martinez-De-Juan, Saiz *et al.*, 2000), nem em certas condições patológicas.

Métodos barostáticos também podem ser empregados na quantificação da motilidade gástrica. Graca, Leal *et al.* (2002) empregam um sistema de vasos comunicantes, composto por um balão intragástrico, cateter e reservatório preenchido

com solução iônica padrão - pletismômetro. Através do uso dessa instrumentação é possível quantificar alterações de volume, as quais correlacionam-se com variações no tônus estomacal, sendo essa a instrumentação mais utilizada no estudo da complacência gástrica e indiretamente da oscilação tônica estomacal. Conforme Souza, Troncon *et al.* (2003), o emprego da pletismometria como método de quantificação da complacência estomacal é confiável e reproduzível.

Medidas realizadas com barostato, evidenciaram que a distensão provocada pela ingestão alimentar diminui a amplitude da pressão na região proximal, sem, contudo, afetar a frequência de oscilação no tônus gástrico (Ahluwalia, Thompson *et al.*, 1996). Contudo, esse método barostático é muito invasivo, podendo interferir e influenciar nos eventos mecânicos (Aspiroz, Ortiz Nolasco *et al.*, 1985; Huizinga e Daniel, 1986).

Outrossim, instrumentações biomagnéticas são amplamente utilizadas no estudo da motilidade gástrica por não interferirem com a fisiologia normal do órgão; não utilizarem radiação ionizante e serem inócuos (Cora, Romeiro *et al.*, 2005). (Guignet, Bergonzelli *et al.* (2006)) utilizou uma nova ferramenta baseada em uma matriz de sensores magnéticos com a finalidade de mapear o trânsito gastrointestinal em ratos por meio de um marcador magnético em forma de cápsula, administrado por uma sonda oro-gástrica. Todavia, essa técnica também utiliza um corpo invasivo, que pode promover alterações do padrão fisiológico. Além disso, o protocolo depende da contenção do animal em uma caixa onde permanece imobilizado por placas acrílicas, o que pode elevar os níveis de estresse.

Aperfeiçoada por Baffa, Oliveira *et al.* (1995) para avaliar a fisiologia do trato gastrointestinal de humanos, a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) é uma técnica biomagnética que vem sendo utilizada devido às vantagens como versatilidade, não invasividade, baixo custo e boa sensibilidade. Os principais trabalhos utilizando a

BAC estão focados no trato gastrointestinal, e seus registros foram obtidos através da ingestão de materiais ferromagnéticos (Cora, Romeiro *et al.*, 2005; Americo, Oliveira *et al.*, 2007; Andreis, Americo *et al.*, 2008), ou da fixação de um marcador magnético à serosa do GI, o que possibilita o registro direto dos movimentos da parede do tubo digestivo, ou seja, das contrações (Andreis, Americo *et al.*, 2008).

A associação da BAC a outros métodos, possibilita a construção de um modelo capaz de detalhar o perfil mecânico do trato gastrointestinal em condições normais ou alteradas. A comparação dos dados obtidos por meio dos registros simultâneos dessa associação, permite avaliar a motilidade gástrica em modelos animais, com a possibilidade de correlacionar-se variações advindas de diferentes estados prandiais ou induzidas farmacologicamente, às condições normais de motilidade.

Considerando que sintomas de várias doenças parecem estar associados a disfunções mecânicas do trato gastrointestinal, os estudos da oscilação tônica estomacal e do espectro de frequência do intestino delgado, podem auxiliar a desvendar as bases fisiológicas e a patogênese dessas doenças (Bouras, Delgado-Aros *et al.*, 2002).

2. Fundamento Teóricos

2.1. Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC)

A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) é uma técnica biomagnética que consiste na aplicação de um campo magnético alternado em um meio biológico e na detecção dessa interação através do uso de traçadores/marcadores magnéticos no tecido (Cora, Romeiro *et al.*, 2005).

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 disposta em uma configuração gradiométrica de primeira ordem, permitindo que os fluxos magnéticos concatenados em cada bobina detectora possam ser subtraídos, eliminando assim os ruídos ambientais e consequentemente tornando-as mais sensíveis (Cora, Romeiro *et al.*, 2005) (Figura 1).

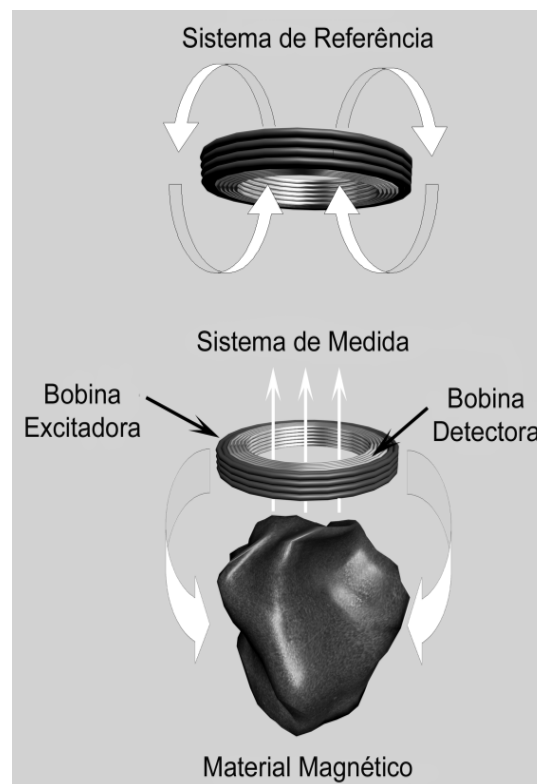


Figura 1-Configuração de um sistema BAC

A BAC diferencia e detecta estruturas através da variação da susceptibilidade magnética inerente a cada material. Materiais ferromagnéticos apresentam alta susceptibilidade magnética, 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 ou cápsulas) (Cora, Fonseca *et al.*, 2008). A ferrita (óxido de ferro com manganês - MnFe_2O_4) é um material ferromagnético inerte que quando submetido a testes físico-químicos não teve suas propriedades modificadas na presença de ácido ou de base (Cora, Romeiro *et al.*, 2006) apresentando vantagens na sua utilização como traçador magnético, tais como a sua não toxicidade e insolubilidade natural (Belikov, 2001; Cora, Americo *et al.*, 2011; Quini, Americo *et al.*, 2012).

Além disso, fragmentos maiores e sólidos de ferrita podem, também, ser considerados excelentes marcadores magnéticos (Andreis, Americo *et al.*, 2008).

Na ausência de qualquer material magnético, o sensor permanece balanceado e nenhuma voltagem é detectada. Entretanto, a aproximação de um 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*” - e uma placa analógico/digital conectada a um computador.

Dessa forma, é possível o acompanhamento da atividade motora de contração gastrointestinal por meio da BAC, uma vez que o sinal detectado por essa técnica é altamente dependente da distância e muda seu perfil conforme a distância entre o material magnético e o sensor. Por princípio, as contrações mecânicas afastam o material do

sensor posicionado na superfície abdominal, reduzindo a força eletromotriz registrada. Do mesmo modo, o relaxamento aproxima o marcador magnético dos sensores, o que, conseqüentemente, aumenta a detecção da força eletromotriz.

2.2. Pletismômetro

O pletismômetro é utilizado na mensuração da complacência gástrica, através da detecção da variação de volume. O instrumental consiste num recipiente preenchido com solução salina acoplado a um par de eletrodos, que mede a variação de impedância do líquido aplicando um sinal alternado num dos eletrodos e tendo o outro como referência – sensor (Figura 2).



Figura 2 - Pletismômetro.

Esse recipiente é conectado a uma cânula conectada a um balão inflável em sua extremidade. Ao preencher tal sistema (recipiente, cânula e balão) com solução, a

ocorrência de uma pequena alteração de pressão sobre o balão, provoca uma variação no volume do recipiente, a qual é registrada no pletismômetro. Este equipamento foi conectado a uma placa analógica/digital (National Instruments) de 16 bits, possibilitando o registro contínuo da variação de volume (Figura 3). Assim, o sinal detectado expressa o volume de solução presente no recipiente, e quando o balão é posicionado no estômago proximal, permite medir variações no volume do sistema e assim quantificar a oscilação tônica presente no estômago proximal.

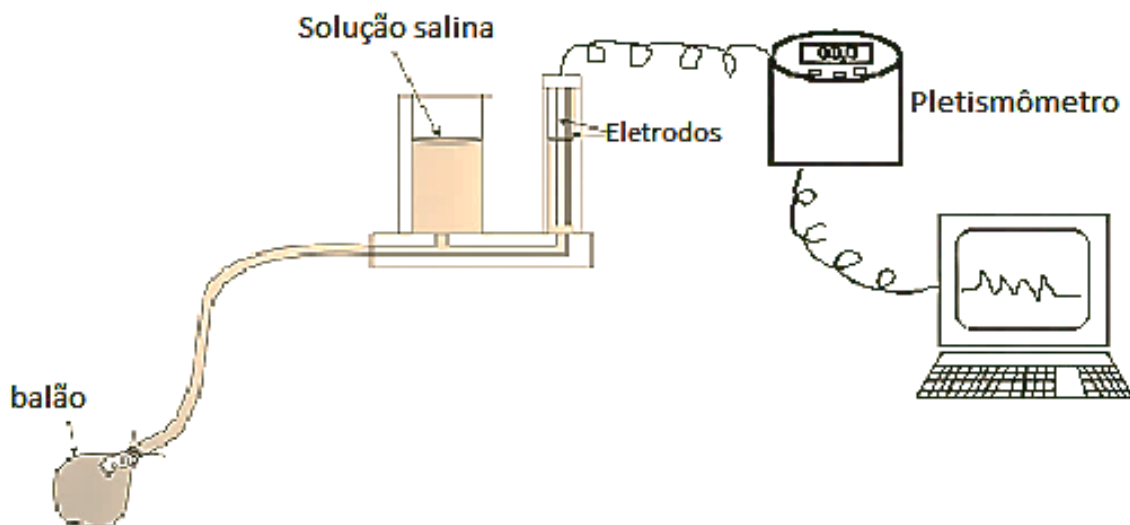


Figura 3 - Representação gráfica do sistema de medida do Pletismômetro.

2.3. Transdutor de força - Strain Gage

Um *strain gage* (SG) basicamente funciona como um transdutor de força. Ele possui uma resistência elétrica variável aplicada sobre uma base, permitindo converter força, pressão ou até mesmo tensão (deslocamento e deformação decorrentes da aplicação de uma força) numa alteração nessa resistência elétrica, cuja intensidade pode ser mensurada.

Nesse trabalho, foram utilizados SG confeccionados revestidos de poliamida, com 3,2mm de comprimento e 1,5mm de largura, base metálica de Constatam, resistência elétrica de 350 ohms e fios de cobre soldados em seus terminais (*Excel Sensors Ltda, Embu, Brasil*) produzidos conforme literatura correlata (Pascaud, Genton *et al.*, 1978; Li, Johnson *et al.*, 2002) (Figuras 04 e 05).

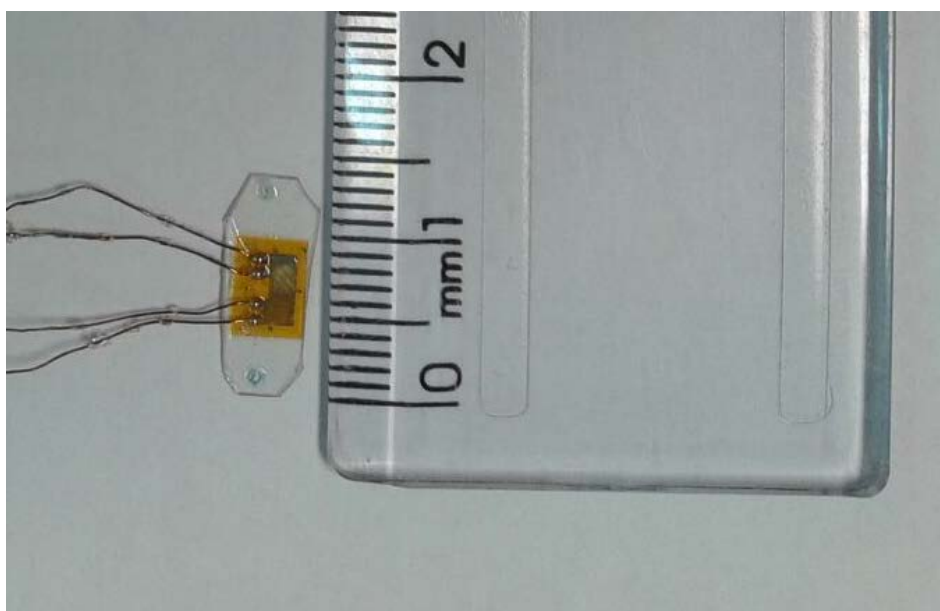


Figura 4 – Um dos *Strain Gages* utilizados nesse trabalho.

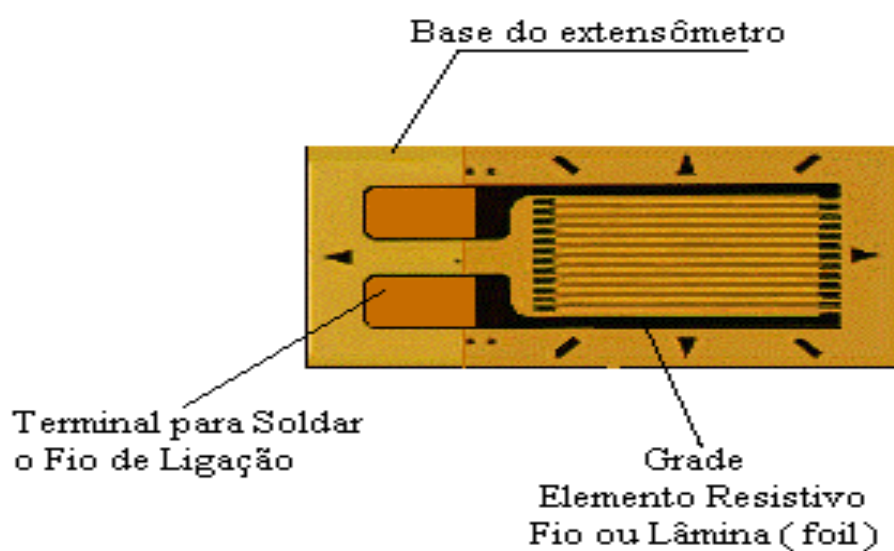


Figura 5 - Representação gráfica de um strain gage.

2.4. Cloreto de Betanecol

O cloreto de betanecol é um éster carbâmico de β -metilcolina análogo da acetilcolina, resistente à destruição pelas colinesterases, o que lhe propicia uma ação mais prolongada (Epstein, Burchell *et al.*, 1994).

A acetilcolina é o neurotransmissor para a inervação intrínseca e extrínseca do trato gastrointestinal, sendo o resultado da estimulação colinérgica sobre a motilidade gástrica predominantemente excitatória (Gorsky, Epstein *et al.*, 2004).

O betanecol possui atividade colinérgica muscarínica e atua como agonista colinérgico com ação semelhante à pilocarpina, estimulando o sistema nervoso parassimpático (Jham, Teixeira *et al.*, 2007).

O cloreto de betanecol foi adquirido da Farmácia Biológica, localizada no município de Curitiba-PR.

3. Objetivos

Este estudo apresenta uma proposta multidisciplinar, que correlaciona as áreas de instrumentação, biofísica e fisiologia, empregando um rol variado de técnicas, com o intuito de subsidiar parâmetros fisiológicos e clínicos que possibilitariam uma melhor compreensão da motilidade gastrointestinal.

O estudo é composto pela realização de dois trabalhos, interligados principalmente à instrumentação e suas técnicas, de forma empregarem a Biosucesptometria de Corrente Alternada (BAC) e outros métodos no estudo das atividades gástrica e intestinal, em modelo animal.

O primeiro trabalho estuda a oscilação tônica da região proximal do estômago e a ação do cloreto de betanecol sobre essa oscilação, através do emprego da BAC e de um Plestimômetro (método barostático).

O segundo trabalho busca quantificar o espectro de frequência predominante nos diferentes segmentos do intestino delgado – duodeno, jejuno e íleo, utilizando para tanto a BAC e transdutores de força -“*strain gage*”.

4. Metodologia

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Biomagnetismo do Departamento de Física e Biofísica, sediado no Instituto de Biociências de Botucatu (IBB-UNESP).

A fim de facilitar o entendimento do leitor, subdividimos esse estudo em dois trabalhos a saber:

- Estudo da oscilação tônica do estômago proximal
- Estudo da atividade contrátil do intestino delgado

4.1. Estudo da oscilação tônica do estômago proximal

4.1.1. Animais

Nesse estudo foram utilizados 12 ratos machos adultos (*Rattus norvegicus albinus* – linhagem Wistar), com peso entre 200 e 350 g, provenientes do Biotério Central da UNESP – Botucatu. Os animais foram mantidos sob condições controladas de temperatura (22 ± 2 °C), umidade (50 ± 10 %), e ciclo claro/escuro (12 h), com água e ração *ad libitum*.

Todos os experimentos e manipulações foram realizados de acordo com os Princípios Éticos em Pesquisa Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Este estudo foi aprovado pelo Comissão de Ética no Uso de Animal (CEUA) do Instituto de Biociências de Botucatu - sob protocolo 685-CEUA.

4.1.2. Procedimento cirúrgico

Após vinte e quatro horas (12h) de jejum com livre acesso a água, os animais foram alimentados com ração (máximo 1g), e então anestesiados através da administração via intraperitoneal de uma mistura de Ketamina (75mg/Kg) e Acepromazina (2,5mg/Kg). Realizou-se então uma traqueostomia, para liberação das vias aéreas superiores, garantindo assim livre respiração ao animal.

4.1.3. Delineamento Experimental

Com o intuito de avaliar a oscilação tônica presente na região proximal do estômago simultaneamente através da BAC e do pletismômetro, em oito (8) animais, adotou-se como modelo inicial o protocolo validado por Graca, Leal *et al.* (2000): Logo após o procedimento cirúrgico, ainda sob anestesia, o animal fora colocado em posição supino e por via oral, um cateter (diâmetro externo 2mm, e interno de 1,5mm) acoplado a um balão flácido de látex (capacidade volumétrica de 4ml), foi introduzido em seu estômago.

O balão fora então preenchido parcialmente com 2 ml de uma suspensão composta por ferrita em pó e iogurte (concentração de 20%) sendo o cateter preenchido com solução salina, tendo sua extremidade livre conectada ao reservatório do pletismômetro (Insight - EFF304), o qual também estava preenchido com solução salina; constituindo tal arranjo, num sistema de vasos comunicantes.

O estômago foi distendido com 20 cm H₂O de pressão, mediante a elevação, logo no início dos experimentos, do nível líquido do reservatório a 20cm acima da base onde o animal estava posicionado. Na sequência, um sistema BAC mono sensor foi posicionado sobre a região gástrica do animal e os registros de ambos os sistemas foram coletados durante 30 minutos.

Outro grupo constituído por quatro (04) animais foi submetido a um segundo protocolo, complementar ao primeiro: logo após a traqueostomia, os animais tinham sua veia caudal puncionada e após aproximadamente vinte (20) minutos de aquisição de sinais, administrava-se cloreto de betanecol na dose de $3\mu\text{g/Kg}$ (Graca, Leal *et al.*, 2000).

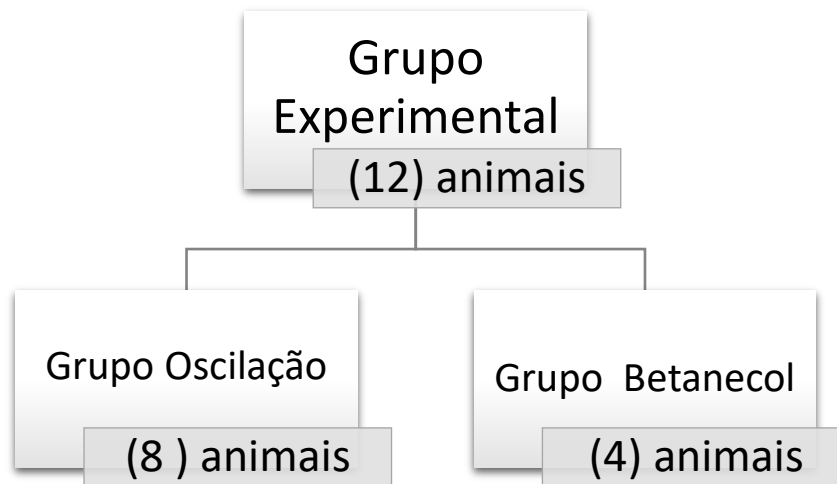


Figura 6 - Delineamento dos experimentos no estudo da atividade contrátil do intestino delgado.

4.1.4. Aquisição de Medidas

No estudo da oscilação tônica gástrica, os animais foram monitorados simultaneamente por BAC e plestimometria. A figura 6 ilustra o esquema geral de aquisição desses registros simultâneos.

Todos os dados foram digitalizados com frequência de amostragem de 20Hz por canal, utilizando um registrador multicanal (Biopac MP100 System; Biopac Inc., Santa Barbara, CA, USA).

Os sinais foram armazenados em padrão ASCII para posterior análise através do Software MatLab® (Mathworks, Natick, MA, EUA).

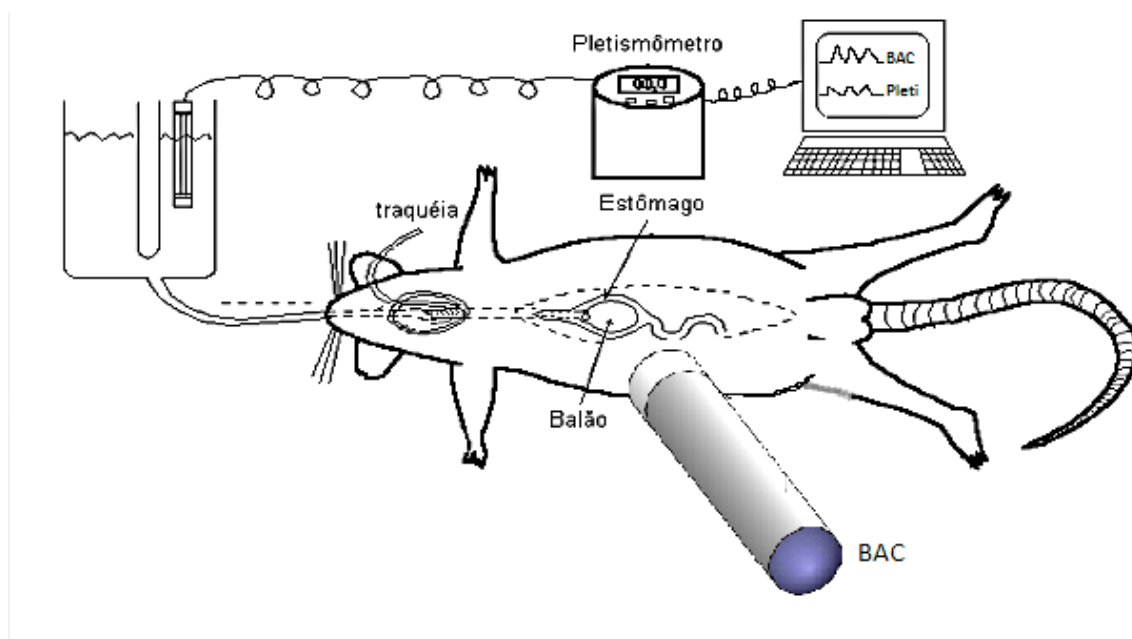


Figura 7 - Representação gráfica da Instrumentação utilizada na quantificação da atividade gástrica.

4.1.5. Processamento de sinais

Os sinais armazenados em padrão ASCII foram analisados em ambiente MatLab® (Mathworks, Natick, MA, EUA), inicialmente por inspeção visual de sua morfologia, sem a aplicação de qualquer tipo de filtragem; e posteriormente por meio da utilização dos filtros Butterworth, SavitskGolay e média móvel (Americo, Marques et al., 2010; Paskaranandavadivel, O'grady et al., 2013).

O principal parâmetro analisado foi a frequência da contração denominada tônica, presente na região fúndica estomacal, a qual foi quantificada por transformada rápida de Fourier (Fast Fourier Transform - FFT) (Reddy, Collins et al., 1987). A transformada rápida de Fourier permite a interpretação, no domínio da frequência, de um dado sinal, possibilitando a identificação das frequências predominantes no mesmo, visto estarem representadas na FFT através dos picos de maiores intensidades.

4.1.6. Análise Estatística

Todos os resultados foram expressos através da média $\pm$ desvio padrão (DP). Os protocolos utilizados basearam-se numa distribuição gaussiana dos dados. Para análise da oscilação tônica do estômago, obtida através da BAC e pletismometria, foram calculados os coeficientes de correlação de Spearman. A concordância entre os resultados obtidos pelos dois métodos foi testada através do método Bland-Altman.

4.1.7. Resultados

A frequência de oscilação tônica do estômago, quantificada simultaneamente através da BAC e do Pletismômetro, está disposta na Tabela 1.

Tabela 1 - Frequências obtidas nas quantificações simultâneas através da BAC e do Pletismômetro.

	Frequências (Hz)	
	Pletismômetro	BAC
Medidas	Tônica	Tônica
1	0,0163	0,0163
2	0,0155	0,0155
3	0,0169	0,0185
4	0,0146	0,0156
5	0,0160	0,0150
6	0,0141	0,0134
7	0,0159	0,0159
8	0,0120	0,0130
Média $\pm$ Desvio padrão(Sd)	0,0152 $\pm$ 0,0016	0,0154 $\pm$ 0,0017
Sd/$\sqrt{n}$	0,0006	0,0006

A figura 8 ilustra o padrão dos sinais e respectivos espectros de frequências (FFT) obtidos durante as aquisições simultâneas, realizadas através da BAC e do Pletismômetro, na quantificação da oscilação tônica estomacal. Esses sinais foram previamente filtrados, visando eliminar ruídos oriundos das oscilações da rede elétrica, ou da própria respiração

do animal. Cada pico no espectro representa uma frequência presente no sinal. Atentando para o espectro de frequências, percebe-se que há dois picos mais destacados em ambas metodologias; sendo que os mesmos representam as contrações tônica e fásica presentes no estômago.

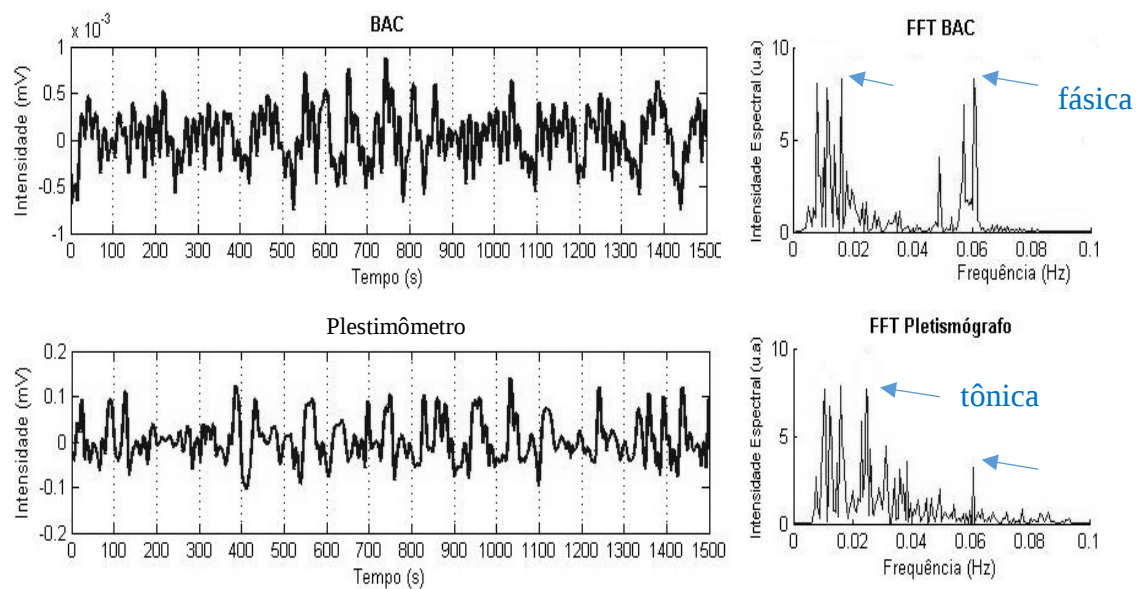


Figura 8 - Padrão dos sinais obtidos simultaneamente pela BAC e Pletismômetro, na quantificação da oscilação tônica do estômago.

Os dados revelaram forte correlação ($R=0,84$) entre as frequências encontradas através da BAC em relação às do pletismômetro, para a atividade tônica estomacal. (Figura 9).

Submetendo os resultados obtidos pelo método biomagnético (BAC) e pelo método barométrico (Pletismômetro), para atividade tônica do estômago, à análise de concordância entre métodos de Bland-Altman, constatou-se que os mesmos apresentam boa concordância entre si (Figura 10).

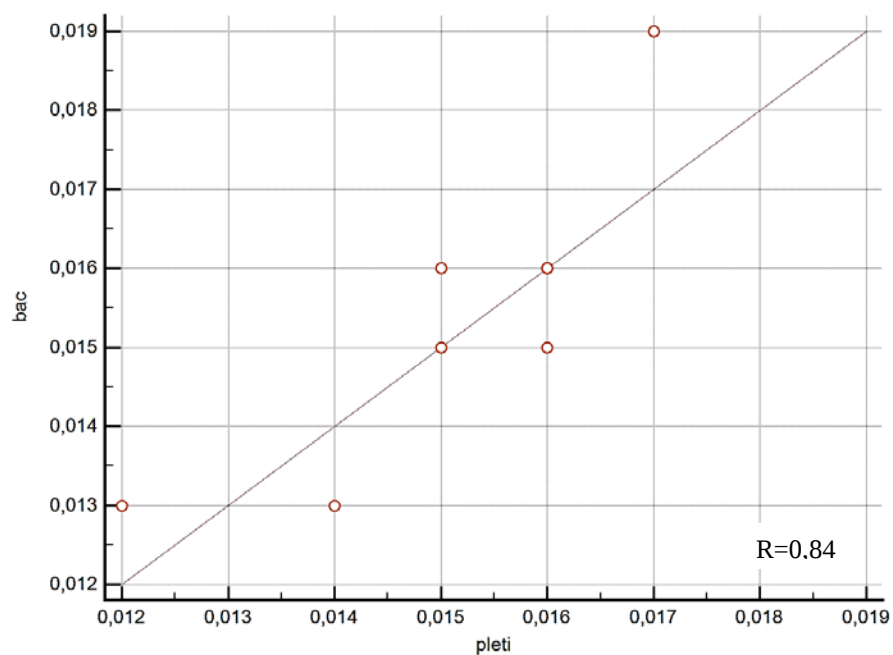


Figura 9 - Correlação Linear entre BAC e Pletismômetro para atividade tônica do estômago.

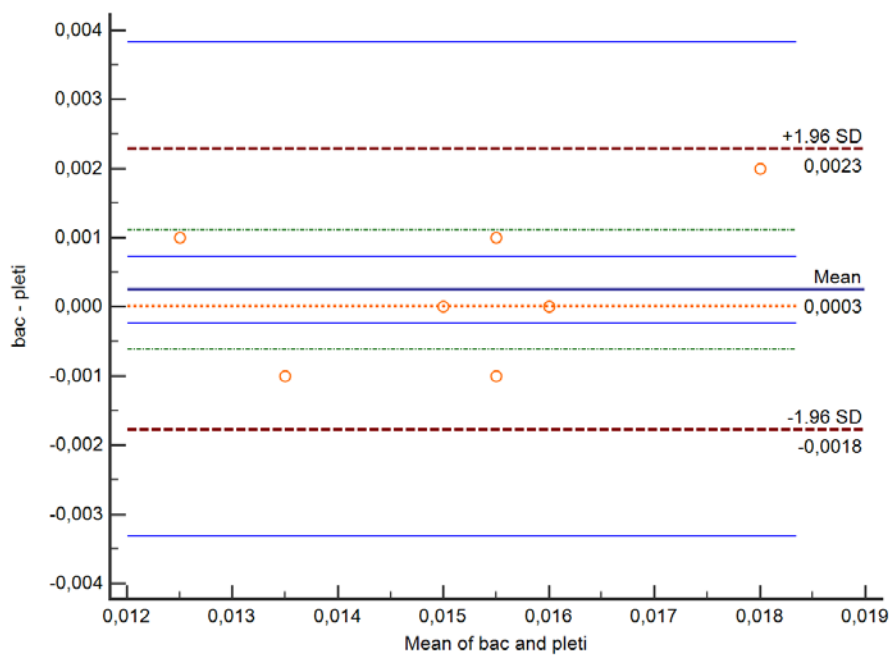


Figura 10 - Gráfico de Bland-Altman: análise da concordância entre os métodos BAC e pletismometria para a oscilação tônica estomacal.

Quando o cloreto de betanecol fora administrado nos animais, a alteração na morfologia do sinal foi visualmente notada nos dois métodos – BAC e pletismômetro. Entretanto, essa alteração era primariamente notada nos sinais adquiridos através da BAC, apresentando um certo retardo temporal na sua detecção pelo pletismômetro (Figura 11).

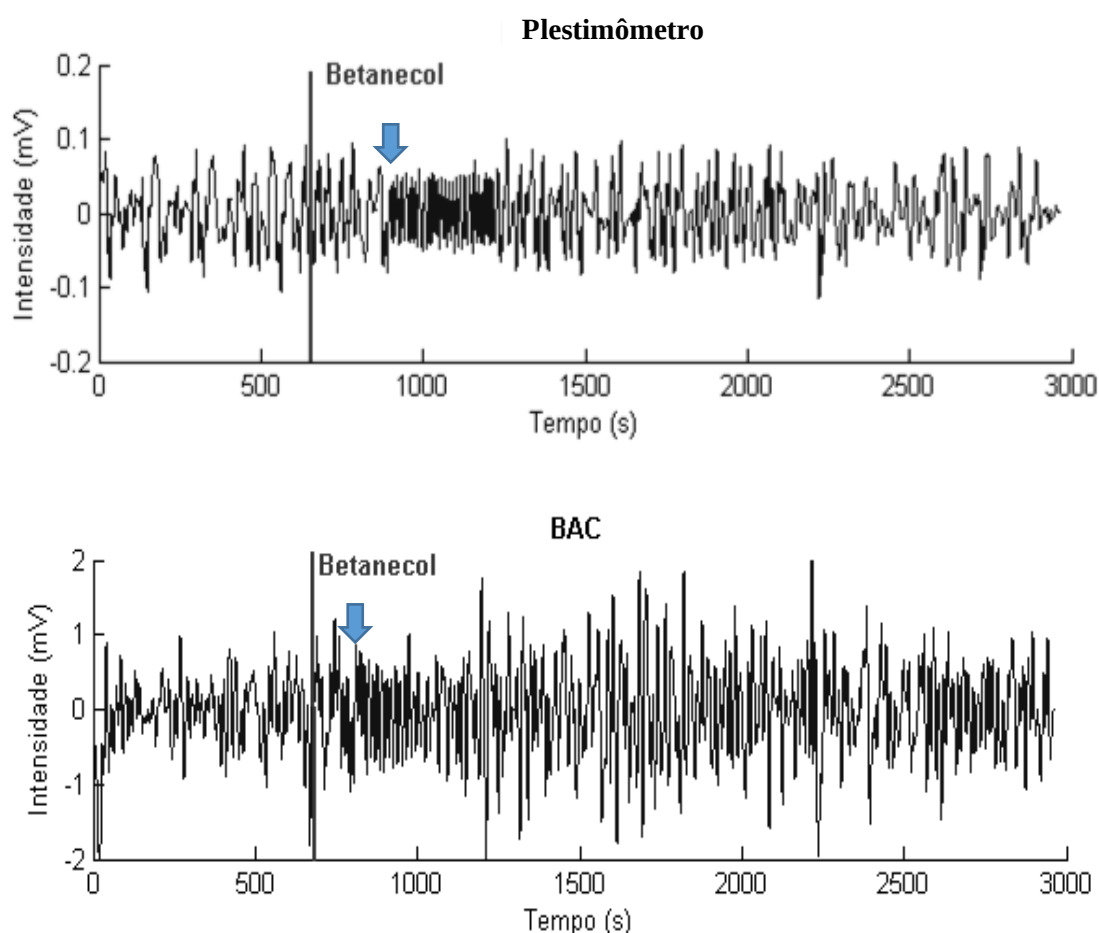


Figura 11 - Alteração no aspecto visual do sinal, após administração do cloreto de betanecol.

As frequências de oscilação tônica anteriores e posteriores à administração do betanecol, adquiridas simultaneamente através da BAC e do Pletismômetro, estão apresentadas na tabela 3. Nota-se um aumento da referida frequência, detectado por ambas instrumentações.

Tabela 2 - Frequências obtidas nas quantificações simultâneas através da BAC e do Pletismômetro.

<i>Medidas</i>	<i>Frequências (Hz)</i>			
	<i>Antes Betanecol</i>		<i>Depois Betanecol</i>	
	<i>BAC</i>	<i>Pletismômetro</i>	<i>BAC</i>	<i>Pletismômetro</i>
1	0,019	0,0167	0,0275	0,0217
2	0,014	0,0200	0,0230	0,0250
3	0,020	0,0158	0,0250	0,0200
4	0,015	0,0162	0,0265	0,0206
<i>Média ±</i>	<i>0,0170 ±</i>	<i>0,0172±</i>	<i>0,0255±</i>	<i>0,0218±</i>
<i>Desvio padrão (Sd)</i>	<i>0,0029</i>	<i>0,0019</i>	<i>0,0020</i>	<i>0,0022</i>
<i>Sd/√n</i>	<i>0,0014</i>	<i>0,0009</i>	<i>0,0010</i>	<i>0,0011</i>

*Valores de $p < 0,01$ para as atividades de um mesmo instrumental, comparadas antes e após administração de Betanecol

A análise de concordância pelo método Bland-Altman, entre os dados obtidos pela BAC e àqueles obtidos pelo pletismômetro, para os períodos anterior e posterior à administração do betanecol, estão apresentados nas figuras 12 e 13. Nelas é possível observar que os sinais adquiridos pelas diferentes instrumentações (BAC e Pletismômetro), para uma mesma condição (Antes ou depois da administração do Betanecol), apresentam boa concordância.

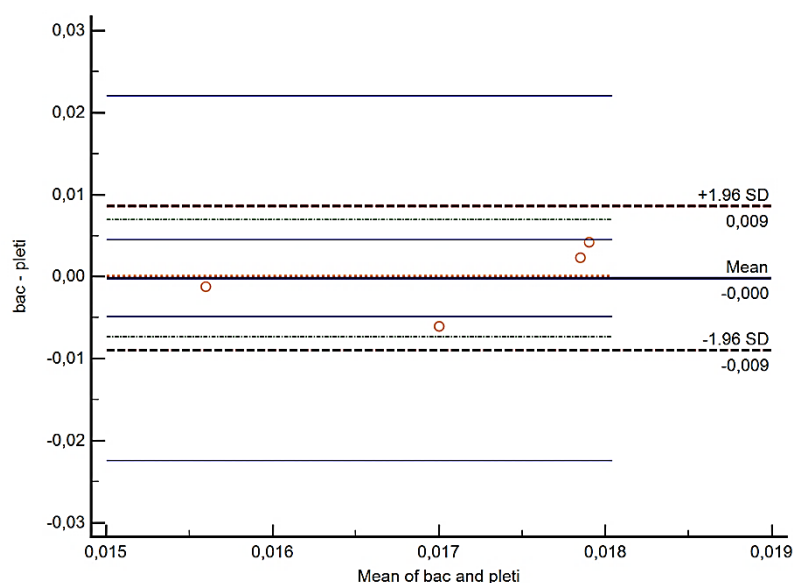


Figura 12 - Gráfico de Bland-Altman: análise da concordância entre os métodos BAC e Pletismometria – Período anterior à administração de betanecol.

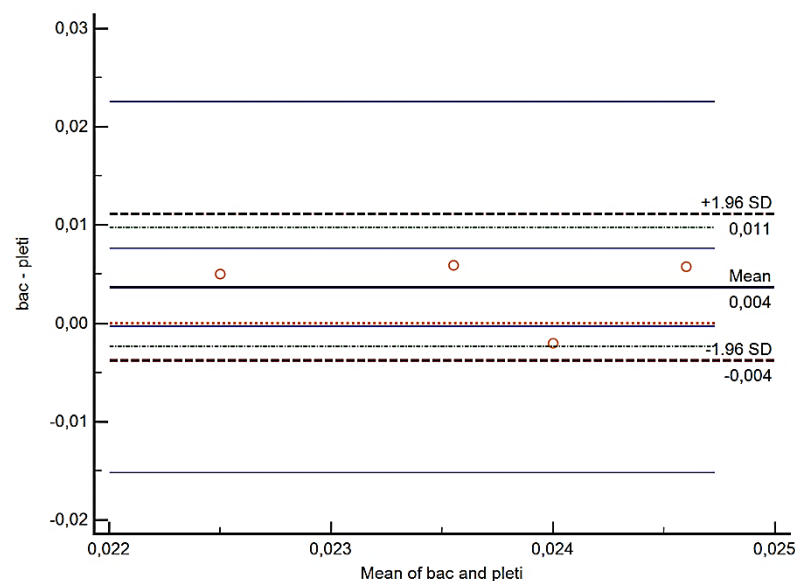


Figura 13 - Gráfico de Bland-Altman: análise da concordância entre os métodos BAC e– Período posterior à administração de betanecol.

4.1.8. Discussão

Os dados apontam para uma forte correlação ($R > 0,80$) e concordância dos sinais adquiridos pela BAC e pelo Plestimômetro, na quantificação da oscilação tônica presente no estômago. Apresentando frequência média de 15 mHz.

Mesmo posicionando o balão intragástrico na região fúndica estomacal, os sinais oriundos da chamada atividade fásica (50 a 80 mHz), presente na região distal do estômago, ainda foram detectados por ambas instrumentações (Figura 8). Entretanto essa já fora bem definida em outros estudos (Americo, Marques *et al.*, 2010), o que facilitou o emprego de filtros aos sinais adquiridos no presente estudo.

A administração do fármaco cloreto de betanecol, cujas ações conhecidas sobre o trato gastrointestinal consistem no aumento das frequências contráteis do estômago (Parkman, Hasler *et al.*, 2004; Sousa, 2016), foi bem caracterizada através do emprego

da BAC e do pletismômetro, cujos sinais apresentaram aumento de suas frequências após a administração do fármaco (Tabela 3).

A análise dos sinais adquiridos pelo Pletismômetro e pela BAC, através do método Bland-Altman, para os períodos anterior e posterior a administração da droga, revelou forte concordância entre as instrumentações.

Outro fato é que as alterações na morfologia do sinal são visualmente detectadas preliminarmente através do método magnético, o que sugere uma melhor sensibilidade desse método na detecção de variações da oscilação tônica (Figura 11).

A biosusceptometria de corrente alternada pode utilizar-se de alimentos sólidos ou líquidos marcados com material magnético. Dessa forma avaliações num mesmo animal podem ser realizadas em diversas sessões de medida sem interferir na fisiologia do estômago, pois a presença do balão provoca uma distensão da parede gástrica, que pode provocar reflexos, os quais causam interferências nos parâmetros estudados.

Ainda assim, o presente estudo mostra a eficácia da BAC como método de avaliação das oscilações de baixa frequência nos tônus gástricos (contrações tônicas).

4.2. Estudo da atividade contrátil do intestino delgado

4.2.1. Animais

Nesse estudo foram utilizados 12 ratos machos adultos (*Rattus norvegicus albinus* – linhagem Wistar), com peso entre 200 e 350 g, provenientes do Biotério Central da UNESP – Botucatu. Os animais foram mantidos no biotério do Laboratório de Biomagnetismo, sob condições controladas de temperatura (22 ± 2 °C), umidade (50 ± 10 %), e ciclo claro/escuro (12 h), com água e ração *ad libitum*.

Os animais foram separados em três grupos com quatro animais cada, nominados respectivamente de grupo duodeno, jejuno e íleo.

Todos os experimentos e manipulações foram realizados de acordo com os Princípios Éticos em Pesquisa Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Este estudo foi aprovado pelo Comissão de Ética no Uso de Animal (CEUA) do Instituto de Biociências de Botucatu - sob protocolo 685-CEUA.

4.2.2. Implantação cirúrgica de marcador magnético e Strain gage.

Para o procedimento cirúrgico, os animais permaneciam por doze horas (12h) em jejum com livre acesso a água e então eram anestesiados através da administração via intraperitoneal de uma mistura de Ketamina (75mg/Kg) e Acepromazina (2,5mg/Kg).

Após serem anestesiados, procedia-se a tricotomia da região ventral abdominal, e os mesmos eram submetidos a uma laparotomia mediana para implantação de um conjunto de *strain gage* e marcador magnético diretamente na serosa de um dos três segmentos do intestino delgado - duodeno, jejuno e íleo - de modo que esse arranjo ficasse posicionado num mesmo *locus*.

Cada conjunto foi constituído de um transdutor tipo *strain gage* (*Excel Sensors Ltda, Embu, Brasil*) e um núcleo de 0,15 g de ferrita (marcador magnético - MnFe_2O_4).

Os fios conectados ao *strain gage* foram conduzidos por meio de tunelamento subcutâneo e exteriorizados através da pele por uma incisão no topo da cabeça do animal, sendo que após o procedimento cirúrgico os animais foram mantidos em gaiolas isoladas.

Os animais permaneciam em recuperação por cinco dias após a implantação cirúrgica, para só então iniciarem-se as sessões experimentais.

4.2.3. *Delineamento experimental*

Visando estabelecer os gradientes contráteis dos diferentes trechos do intestino delgado, os animais foram divididos em três grupos com quatro animais cada. Cada um desses grupos teve o conjunto de *strain gage* e marcador magnético implantado única e exclusivamente em um dos segmentos do intestino delgado, resultando assim em quatro (4) animais com implante no duodeno, quatro (4) animais com implante no jejuno e quatro (4) animais com implante no íleo (Figura 14).

Anteriormente às sessões experimentais, cada animal fora mantido por doze horas (12h) em jejum com livre acesso a água. Cerca de uma hora antes, o animal era alimentado com no máximo três (3) gramas de ração comercial e então anestesiado através da administração via intraperitoneal de uma mistura de Ketamina (75mg/Kg) e Acepromazina (2,5mg/Kg). O mesmo era então mantido em posição supina e um mono sensor BAC fora posicionado sobre a região abdominal ventral, bem como os fios exteriorizados no topo de sua cabeça, conectados à um sistema digitalizador.

Cada sessão experimental durou aproximadamente sessenta (60) minutos, sendo os registros advindos da BAC e do *strain gage* (SG) coletados simultaneamente. Para

cada animal foram realizadas 2 medidas, com intervalo mínimo entre as mesmas de 5 dias.

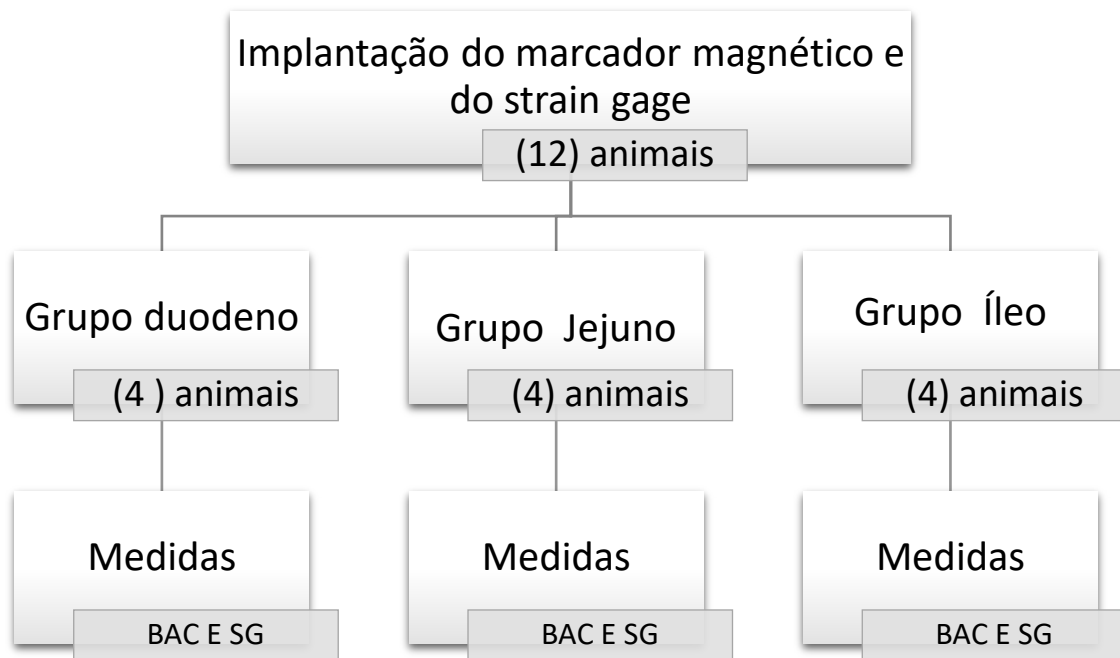


Figura 14 - Delineamento dos experimentos no estudo da atividade contrátil do intestino

4.2.4. Aquisição de Medidas

A figura 15 ilustra o esquema geral de aquisição dos registros simultâneos magnético e do *strain gage*. Tais registros foram digitalizados com frequência de amostragem de 20Hz por canal, utilizando um registrador multicanal (Biopac MP100 System; Biopac Inc., Santa Barbara, CA, USA).

Os dados foram armazenados em padrão ASCII para posterior análise através do Software MatLab® (Mathworks, Natick, MA, EUA).

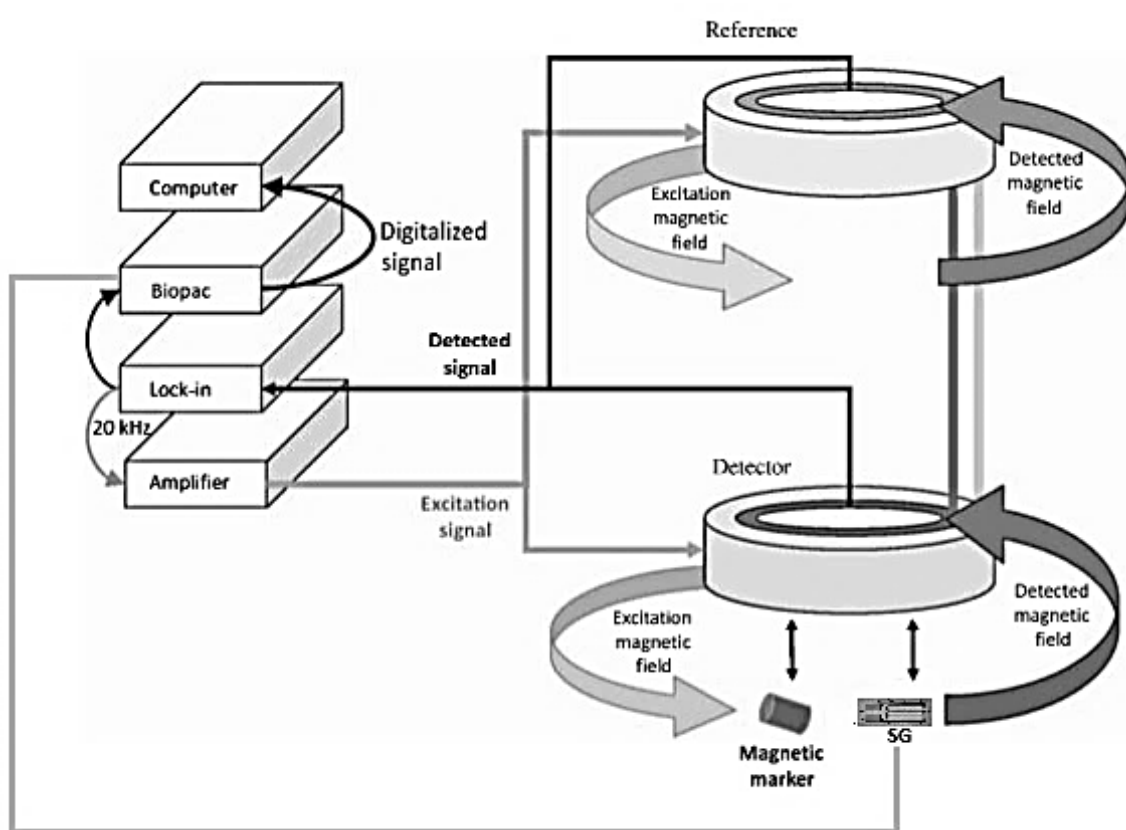


Figura 15 - Representação gráfica da Instrumentação usada no estudo dos segmentos intestinais.
Fonte: Adaptado de (Americo, Marques et al., 2010)

4.2.5. Processamento de sinais

Os sinais armazenados em padrão ASCII foram analisados em ambiente MatLab® (Mathworks, Natick, MA, EUA), inicialmente por inspeção visual de sua morfologia, sem a aplicação de qualquer tipo de filtragem; e posteriormente por meio da utilização dos filtros *Butterworth*, *SavitskGolay* e *média móvel* (Americo, Marques et al., 2010; Paskaranandavadivel, O'grady et al., 2013).

O principal parâmetro analisado foi a frequência de contração, quantificada por transformada rápida de Fourier (*Fast Fourier Transform* - FFT) (Reddy, Collins et al., 1987). A transformada rápida de Fourier permite a interpretação, no domínio da frequência, de um dado sinal, possibilitando a identificação das frequências predominantes no mesmo, visto estarem representadas na FFT através dos picos de maiores intensidades.

4.2.6. Análise Estatística

Todos os resultados foram expressos através da média $\pm$ desvio padrão (DP). Os protocolos utilizados basearam-se numa distribuição gaussiana dos dados. Para análise da correlação em frequência obtidas pela BAC e *strain gage* para um mesmo segmento do intestino delgado, foram calculados os coeficientes de correlação de Spearman. A concordância entre os resultados obtidos pelos dois métodos foi testada através do método Bland-Altman.

4.2.7. Resultados

As frequências obtidas para os três trechos do intestino delgado – duodeno, jejuno e íleo - simultaneamente através do método magnético (BAC) e do transdutor de força (*Strain Gage* - SG) estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 3 - Frequências obtidas nas quantificações simultâneas dos diferentes segmentos do intestino delgado através da BAC e do *Strain Gage* (SG).

<i>Medidas</i>	<i>Frequências (Hz)</i>					
	<i>Duodeno</i>		<i>Jejuno</i>		<i>Íleo</i>	
	<i>BAC</i>	<i>SG</i>	<i>BAC</i>	<i>SG</i>	<i>BAC</i>	<i>SG</i>
1	0,4480	0,4618	0,3383	0,3219	0,2321	0,2521
2	0,4683	0,4800	0,3583	0,3500	0,2317	0,2538
3	0,4250	0,4316	0,3347	0,3157	0,2333	0,2333
4	0,4300	0,4150	0,3555	0,3426	0,2389	0,2444
5	0,4166	0,4166	0,3451	0,3426	0,2500	0,2583
6	0,4443	0,4443	0,3392	0,3326	0,2692	0,2692
7	0,4141	0,4016	0,3521	0,3521	0,2333	0,2333
<i>Média $\pm$</i>	0,4352 $\pm$	0,4358 $\pm$	0,3462 $\pm$	0,3368 $\pm$	0,2412 $\pm$	0,2492 $\pm$
<i>Desvio padrão (Sd)</i>	0,0194	0,0280	0,0092	0,0139	0,0139	0,0132
<i>Sd/$\sqrt{n}$</i>	0,0073	0,0106	0,0035	0,0053	0,0053	0,0050

Em todos os sinais obtidos nesse estudo por ambas instrumentações, foi possível identificar um pico de frequência em torno do 50 mHz, identificada como proveniente da

atividade mecânica do estômago, cuja amplitude sempre fora maior que aquelas encontradas nos sinais oriundos dos segmentos intestinais (Figura 16).

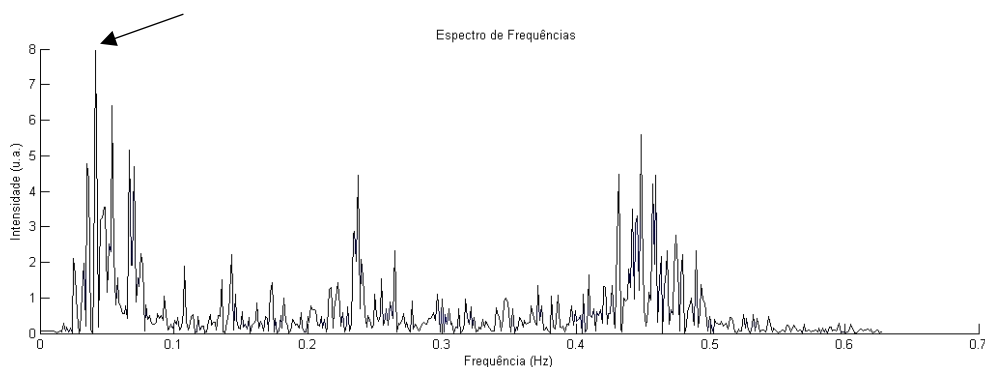


Figura 16 - Frequência contrátil proveniente do estômago.

As figuras 17, 18 e 19 ilustram padrões dos sinais adquiridos simultaneamente através da BAC e do SG para o duodeno, jejuno e íleo; acompanhados do espectro de frequências encontrado nos respectivos sinais. Esses sinais foram previamente filtrados, visando eliminar ruídos oriundos das oscilações da rede elétrica, ou da própria respiração do animal.

Cada pico no espectro representa uma frequência presente no sinal. O pico com maior intensidade representa a frequência mais significativa para o segmento intestinal em análise.

Atentando-se ao espectro de frequências, percebe-se ainda que à medida que nos aproximamos do segmento final do intestino delgado, há uma diminuição no valor das frequências predominantes. Além disso, a amplitude do sinal obtido através da BAC, mostrou-se sempre maior do que aquela obtida através do SG.

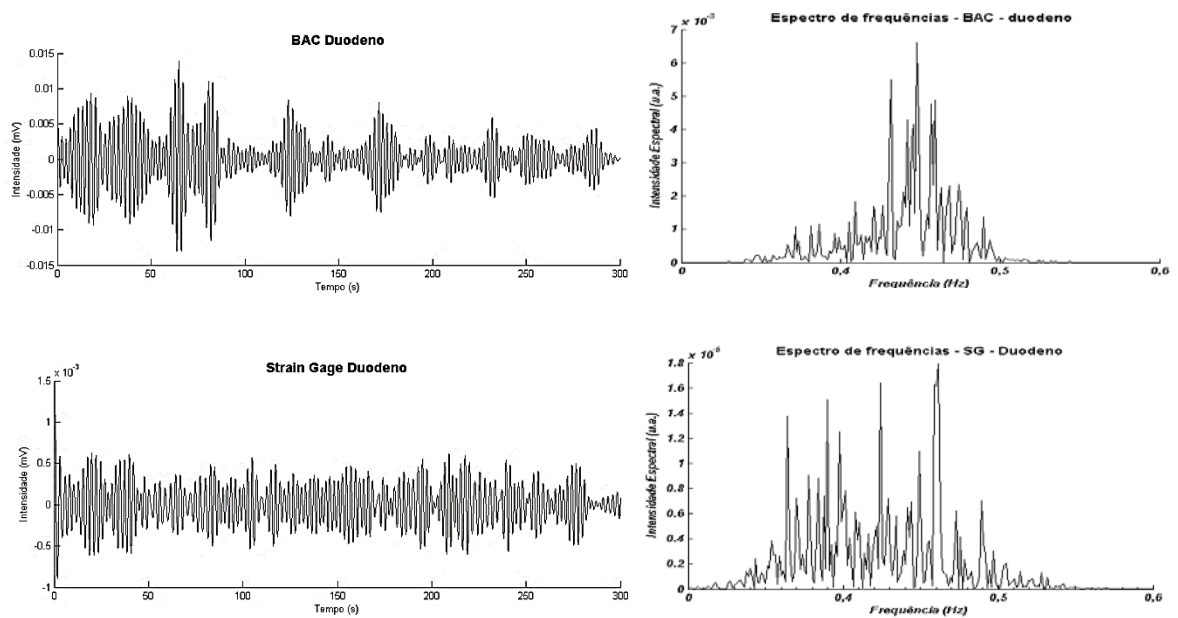


Figura 17 - Padrão dos sinais obtidos simultaneamente por BAC e SG no duodeno.

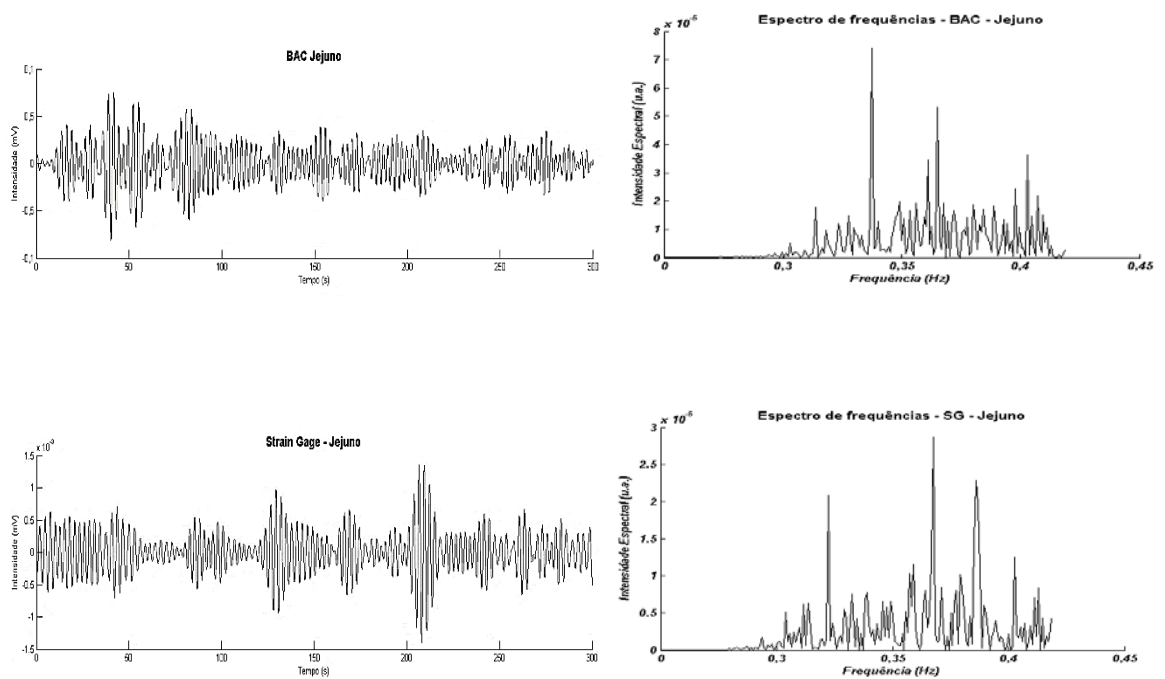


Figura 18 - Padrão dos sinais obtidos simultaneamente por BAC e SG no Jejuno.

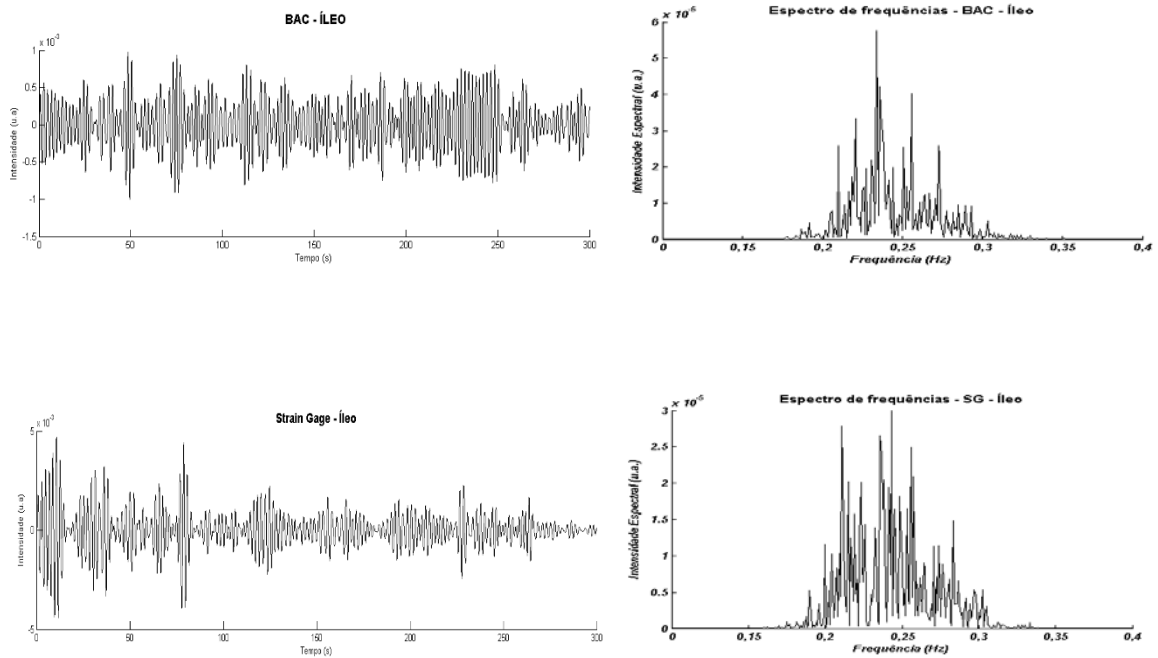


Figura 19 - Padrão dos sinais obtidos simultaneamente por BAC e SG no Íleo.

Os dados revelaram forte correlação entre as frequências encontradas através da BAC em relação às do *strain gage* (SG), para os segmentos do duodeno e do jejuno, mas uma baixa correlação para o íleo (Figura 20).

Submetendo os resultados obtidos pelo método biomagnético (BAC) e pelo transdutor de força (SG), para um mesmo segmento intestinal, à análise de concordância entre métodos de Bland-Altman, observou-se que os mesmos apresentam boa concordância entre si para qualquer um dos segmentos avaliados (Figura 21).

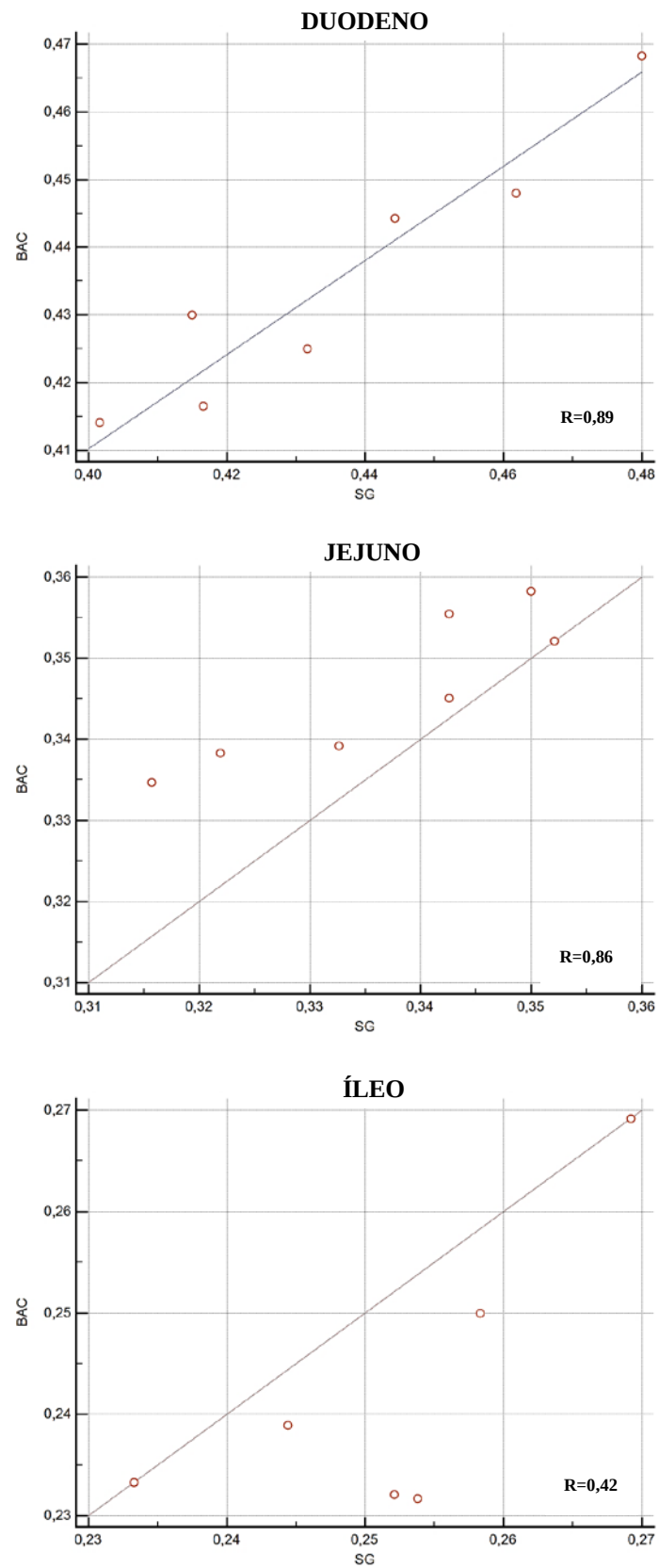


Figura 20 - Gráficos de correlação dos dados obtidos através da BAC e SG, para o duodeno, jejuno e íleo

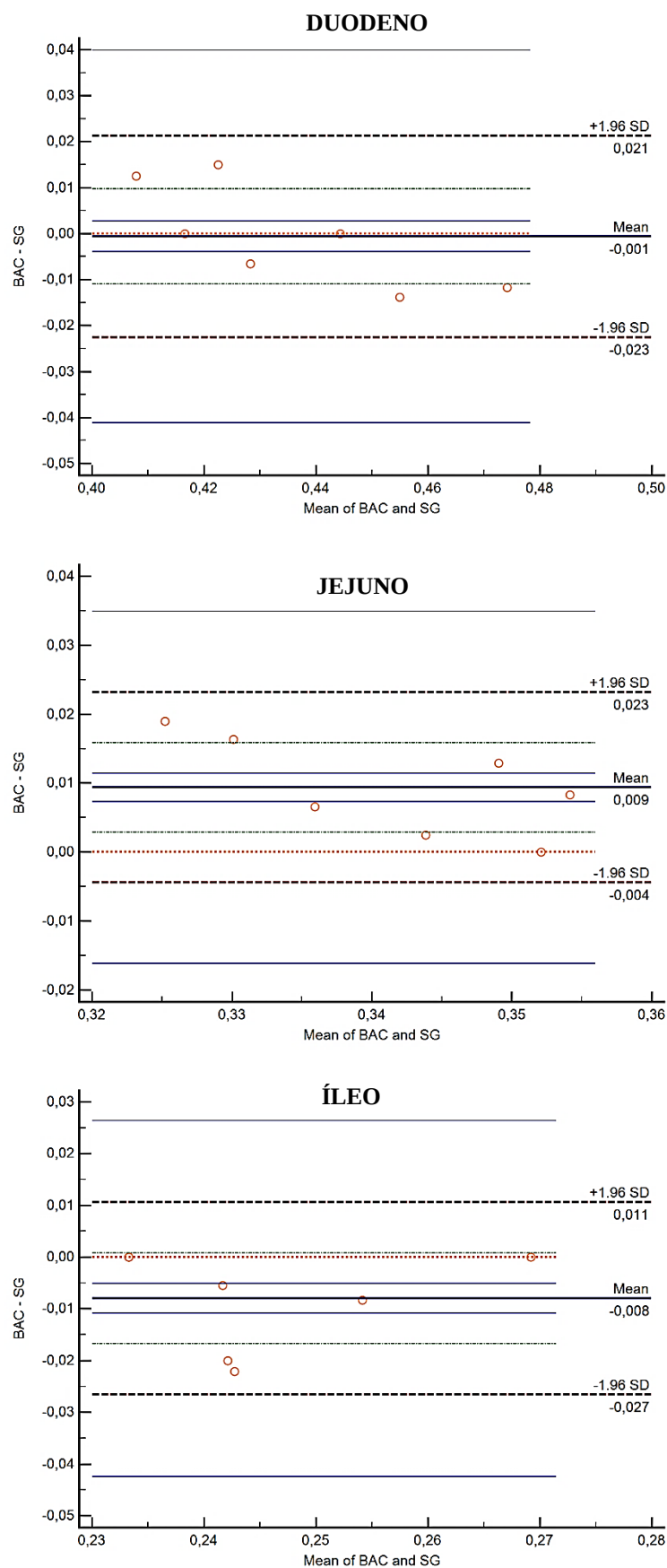


Figura 21 - Gráficos de Bland-Altman: análise da concordância entre os métodos BAC e SG para os os diferentes segmentos do intestino delgado.

4.2.8. Discussão

O objetivo desse estudo foi avaliar o espectro de frequência dos diferentes segmentos do intestino delgado, através do emprego simultâneo da biosusceptometria de corrente alternada (BAC) e de *strain gages*. O intervalo de frequências encontrado através da BAC para o duodeno - 410 a 470 mHz ou 24,6 a 28,2 contrações por minuto (cpm) -, para o jejuno - 330 a 360 mHz ou 19,8 a 21,6 cpm - e para o íleo - 230 a 270 mHz ou 13,8 a 16 cpm (Tabela 2), bem como aquele encontrado através do SG para duodeno - 400 a 480 mHz ou 24 a 28,8 contrações por minuto (cpm) -, para o jejuno - 320 a 350 mHz ou 19,2 a 21 cpm - e para o íleo - 230 a 270 mHz ou 13,8 a 16 cpm (Tabela 3) corroboram outros trabalhos (Bueno, Ferre *et al.*, 1981; Caruolo, 1990; Wang, Lammers *et al.*, 2005).

Essa disposição das frequências mostra um gradiente contrátil decrescente ao longo do intestino delgado, partindo do duodeno em direção ao íleo (sentido aboral), que se relaciona à direção de propagação da onda peristáltica.

Como a massa muscular é diretamente proporcional à capacidade contrátil, (Tanovic, Fernandez *et al.*, 2006) e anatomicamente a massa muscular estomacal é maior que a intestinal (Herman, Thor *et al.*, 1989) isso faz com que a contração gástrica tenha alta amplitude, e sua de contração seja detectada no duodeno e também nos demais segmentos do intestino delgado. Entretanto, a frequência gástrica em ratos está bem caracterizada e apresenta frequências em torno de 3 a 5cpm (Long, Fang *et al.*, 2004; Americo, Marques *et al.*, 2010; Rozemeire, Madileine *et al.*, 2014) o que possibilita o emprego de filtros na análise dos sinais adquiridos dos segmentos do intestino.

Os dados evidenciaram forte correlação ($R > 0,80$) entre as duas técnicas utilizadas (SG e BAC), na quantificação das frequências predominantes no duodeno e jejuno, mas uma baixa correlação na região do íleo.

A concordância entre os resultados obtidos através das duas instrumentações foi avaliada através do método proposto por Bland-Altman, sendo esse um dos métodos considerado ideal para esse tipo de comparação (Watson e Petrie, 2010). Essa comparação está expressa através da figura 20, onde verificamos a concordância entre os sinais adquiridos através da BAC e do *straining gage* para um mesmo segmento intestinal.

A análise inicial dos sinais sugere uma melhor qualidade da BAC em relação ao transdutor de força, considerando a maior amplitude dos sinais obtidos através do método magnético. Entretanto, a fim de confirmar essa maior sensibilidade, se faz necessário um novo estudo, que induza um estímulo no intestino delgado, muito provavelmente através de uma droga com ação comprovada sobre essa região, a fim de detectar-se tal interferência através de através das duas instrumentações – Biosusceptometria e *strain gage*.

Os *strain gages* mostraram ser fortemente atacados pelo conteúdo intestinal, o que resultava numa rápida degradação de sua estrutura, muitas vezes ocorrendo o encapsulamento do SG no intestino, fato que pode explicar a baixa qualidade do sinal obtido por esse método. A redução do período compreendido entre o procedimento cirúrgico e aquisição das medidas e, possibilitará o aumento da vida útil desse sensor.

A biosusceptometria, que independe da conexão de fios, em que o marcador magnético não é atacado pelo conteúdo intestinal e cujo procedimento cirúrgico não apresenta cuidados adicionais no pós-cirúrgico – como a proteção dos fios do *strain gage* para que não sejam roídos ou arrancados pelo próprio animal –, faz da BAC um método mais simples e eficaz no estudo das frequências presentes no intestino delgado.

O presente estudo mostra a eficácia da BAC como método de avaliação das frequências predominantes no intestino delgado, permitindo identificar o padrão contrátil dos seus diferentes segmentos.

5. Conclusão

Este trabalho teve sucesso em aplicar simultaneamente a BAC e outras técnicas - Plestimômetro ou *strain gage* - na avaliação da oscilação tônica estomacal e também do espectro de frequências predominante nos diferentes trechos do intestino delgado.

A biosusceptometria mostra-se uma técnica flexível, sensível e precisa para estudos das atividades do estômago e do intestino delgado em ratos e pode ser aplicada em outros modelos (Miranda, Oliveira *et al.*, 1997; Americo, Oliveira *et al.*, 2007),(Americo, Marques *et al.*, 2010; Quini, Americo *et al.*, 2012).

A possibilidade de usar alimentos marcados magneticamente, soluções magnéticas ou até mesmo nanopartículas magnéticas confere ao método biosusceptométrico uma gama considerável de aplicações, que aliadas ao baixo custo e invasividade a tornam uma técnica altamente eficaz na avaliação dos padrões fisiológicos presente no trato gastrintestinal

6. Referências

AHLUWALIA, N. K.; THOMPSON, D. G.; BARLOW, J. Effect of distension and feeding on phasic changes in human proximal gastric tone. **Gut**, v. 39, n. 5, p. 757-61, Nov 1996. ISSN 0017-5749 (Print) 0017-5749 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9014778> >.

AMERICO, M. F. et al. Validation of ACB in vitro and in vivo as a biomagnetic method for measuring stomach contraction. **Neurogastroenterol Motil**, v. 22, n. 12, p. 1340-4, e374, Dec 2010. ISSN 1365-2982 (Electronic) 1350-1925 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20874731> >.

AMERICO, M. F. et al. Scintigraphic validation of AC Biosusceptometry to study the gastric motor activity and the intragastric distribution of food in humans. **Neurogastroenterol Motil**, v. 19, n. 10, p. 804-11, Oct 2007. ISSN 1350-1925 (Print) 1350-1925 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17883432> >.

ANDREIS, U. et al. Gastric motility evaluated by electrogastrography and alternating current biosusceptometry in dogs. **Physiol Meas**, v. 29, n. 9, p. 1023-31, Sep 2008. ISSN 0967-3334 (Print) 0967-3334 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18698113> >.

ASPIROZ, J. et al. [Use of a silastic stent in the prevention of stenosis of the esophagus secondary to burns due to the ingestion of a caustic: preliminary report]. **Rev Gastroenterol Mex**, v. 50, n. 4, p. 273-6, Oct-Dec 1985. ISSN 0375-0906 (Print) 0375-0906 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3832326> >.

AZPIROZ, F.; MALAGELADA, J. R. Pressure activity patterns in the canine proximal stomach: response to distension. **Am J Physiol**, v. 247, n. 3 Pt 1, p. G265-72, Sep 1984. ISSN 0002-9513 (Print) 0002-9513 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6476116> >.

BAFFA, O. et al. Analysis and development of AC biosusceptometer for oro-caecal transit time measurements. **Med Biol Eng Comput**, v. 33, n. 3, p. 353-7, May 1995. ISSN 0140-0118 (Print) 0140-0118 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7475377> >.

BELIKOV, V. G. K., A.G. Generation and Medicobiological Application of Magnetic Fields and Carriers (Review). **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 35, n. 2, p. 7, February 2001 2001.

BOURAS, E. P. et al. SPECT imaging of the stomach: comparison with barostat, and effects of sex, age, body mass index, and fundoplication. Single photon emission computed tomography. **Gut**, v. 51, n. 6, p. 781-6, Dec 2002. ISSN 0017-5749 (Print) 0017-5749 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12427776> >.

BUENO, L. et al. Continuous electrical and mechanical activity recording in the gut of the conscious rat. **J Pharmacol Methods**, v. 6, n. 2, p. 129-36, Sep 1981. ISSN 0160-5402 (Print) 0160-5402 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7289630> <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0160540281900358> >.

CAMILLERI, M.; FORD, M. J. Review article: colonic sensorimotor physiology in health, and its alteration in constipation and diarrhoeal disorders. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 12, n. 4, p. 287-302, Apr 1998. ISSN 0269-2813 (Print) 0269-2813 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9690718> >.

CARUOLO, E. V. The effect of age on the rhythmic contractions of the rat small intestine. **Lab Anim**, v. 24, n. 3, p. 207-12, Jul 1990. ISSN 0023-6772 (Print) 0023-6772 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2395319> >.

CELLINI, J. et al. Regional differences in neostigmine-induced contraction and relaxation of stomach from diabetic guinea pig. **Auton Neurosci**, v. 160, n. 1-2, p. 69-81, Feb 24 2011. ISSN 1872-7484 (Electronic) 1566-0702 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21075692> >.

CORA, L. A. et al. Biomagnetic methods: technologies applied to pharmaceutical research. **Pharm Res**, v. 28, n. 3, p. 438-55, Mar 2011. ISSN 1573-904X (Electronic) 0724-8741 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20949311> >.

CORA, L. A. et al. Influence of compression forces on tablets disintegration by AC Biosusceptometry. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 69, n. 1, p. 372-9, May 2008. ISSN 0939-6411 (Print) 0939-6411 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18164605> >.

CORA, L. A. et al. Enteric coated magnetic HPMC capsules evaluated in human gastrointestinal tract by AC biosusceptometry. **Pharm Res**, v. 23, n. 8, p. 1809-16, Aug 2006. ISSN 0724-8741 (Print) 0724-8741 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16858651> >.

CORA, L. A. et al. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 57, n. 8, p. 1223-41, Jun 15 2005. ISSN 0169-409X (Print) 0169-409X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15935871> >.

EPSTEIN, J. B. et al. A clinical trial of bethanechol in patients with xerostomia after radiation therapy. A pilot study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 77, n. 6, p. 610-4, Jun 1994. ISSN 0030-4220 (Print) 0030-4220 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7915026> >.

GORSKY, M. et al. The efficacy of pilocarpine and bethanechol upon saliva production in cancer patients with hyposalivation following radiation therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 97, n. 2, p. 190-5, Feb 2004. ISSN 1079-2104 (Print) 1079-2104 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14970777> >.

GRACA, J. R. et al. A plethysmometric method for gastric compliance studies in anesthetized rats. **J Pharmacol Toxicol Methods**, v. 43, n. 1, p. 25-30, Jan-Feb 2000. ISSN 1056-8719 (Print) 1056-8719 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11091127> >.

_____. Variations in gastric compliance induced by acute blood volume changes in anesthetized rats. **Braz J Med Biol Res**, v. 35, n. 3, p. 405-10, Mar 2002. ISSN 0100-879X (Print) 0100-879X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11887221> >.

GUIGNET, R. et al. Magnet Tracking: a new tool for in vivo studies of the rat gastrointestinal motility. **Neurogastroenterol Motil**, v. 18, n. 6, p. 472-8, Jun 2006. ISSN 1350-1925 (Print) 1350-1925 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16700727> >.

HANSEN, M. B. Neurohumoral control of gastrointestinal motility. **Physiol Res**, v. 52, n. 1, p. 1-30, 2003. ISSN 0862-8408 (Print) 0862-8408 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12625803> >.

HERMAN, R. M. et al. Gastric emptying of liquids in patients with peptic ulcer disease. **Acta Physiol Pol**, v. 40, n. 2, p. 250-4, Mar-Apr 1989. ISSN 0044-6033 (Print) 0044-6033 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2641422> >.

HUIZINGA, J. D.; DANIEL, E. E. Control of human colonic motor function. **Dig Dis Sci**, v. 31, n. 8, p. 865-77, Aug 1986. ISSN 0163-2116 (Print) 0163-2116 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3525046> >.

HUIZINGA, J. D. et al. Two independent networks of interstitial cells of cajal work cooperatively with the enteric nervous system to create colonic motor patterns. **Front Neurosci**, v. 5, p. 93, 2011. ISSN 1662-453X (Electronic) 1662-453X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21833164> >.

JHAM, B. C. et al. A randomized phase III prospective trial of bethanechol to prevent radiotherapy-induced salivary gland damage in patients with head and neck cancer. **Oral Oncol**, v. 43, n. 2, p. 137-42, Feb 2007. ISSN 1368-8375 (Print) 1368-8375 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16798061> >.

JOHNSON, L. R. **Gastrointestinal Physiology**. 8ª. Philadelphia: 2014. ISBN 978-0-323-10085-4.

LAMMERS, W. J. E. P. et al. Slow wave propagation and plasticity of interstitial cells of Cajal in the small intestine of diabetic rats. **Experimental Physiology**, v. 96, n. 10, p. 1039-1048, 2011. ISSN 1469-445X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1113/expphysiol.2011.058941> >.

LI, M. et al. Cholinergic and nitrergic regulation of in vivo giant migrating contractions in rat colon. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 283, n. 3, p. G544-52, Sep 2002. ISSN 0193-1857 (Print) 0193-1857 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12181166> >.

LONG, Q.-L. et al. Gastro-electric dysrhythm and lack of gastric interstitial cells of cajal. **World Journal of Gastroenterology**, v. 10, n. 8, p. 1227-1230, 04/15 09/09/received 10/04/revised 10/07/accepted 2004. ISSN 1007-9327 2219-2840. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4656367/> >.

MALAGELADA, J. R. et al. Gastric motor abnormalities in diabetic and postvagotomy gastroparesis: effect of metoclopramide and bethanechol. **Gastroenterology**, v. 78, n. 2, p. 286-93, Feb 1980. ISSN 0016-5085 (Print) 0016-5085 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7350052> >.

MARTINEZ-DE-JUAN, J. L. et al. Small bowel motility: relationship between smooth muscle contraction and electroenterogram signal. **Med Eng Phys**, v. 22, n. 3, p. 189-99, Apr 2000. ISSN 1350-4533 (Print) 1350-4533 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10964039> >.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Saúde Brasil 2013 - uma análise da situação de saúde e das doenças transmissíveis relacionadas à pobreza**. SAÚDE, S. D. V. E. Brasília - Brasil: Ministério da Saúde: 384 p. 2014.

MIRANDA, J. R. et al. A novel biomagnetic method to study gastric antral contractions. **Phys Med Biol**, v. 42, n. 9, p. 1791-9, Sep 1997. ISSN 0031-9155 (Print) 0031-9155 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9308084 >.

MOULY, S.; PAINE, M. F. P-glycoprotein increases from proximal to distal regions of human small intestine. **Pharm Res**, v. 20, n. 10, p. 1595-9, Oct 2003. ISSN 0724-8741 (Print) 0724-8741 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14620513> >.

NATIONAL INSTITUTE OF DIABETES AND DIGESTIVE AND KIDNEY DISEASES. Digestive Diseases Statistics for the United States. 2014. Disponível em: < <https://www.niddk.nih.gov/health-information/health-statistics/digestive-diseases> >.

NGUYEN, N. Q. et al. Proximal gastric motility in critically ill patients with type 2 diabetes mellitus. **World J Gastroenterol**, v. 13, n. 2, p. 270-5, Jan 14 2007. ISSN 1007-9327 (Print) 1007-9327 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17226907> >.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Global Health Estimate 2014 Summary Tables**. SYSTEMS, D. O. H. S. A. I.: Organização Mundial da Saúde 2014.

PARKMAN, H. P. et al. Electrogastrography: a document prepared by the gastric section of the American Motility Society Clinical GI Motility Testing Task Force. **Neurogastroenterol Motil**, v. 15, n. 2, p. 89-102, Apr 2003. ISSN 1350-1925 (Print) 1350-1925 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12680908> >.

PARKMAN, H. P. et al. American Gastroenterological Association technical review on the diagnosis and treatment of gastroparesis. **Gastroenterology**, v. 127, n. 5, p. 1592-

622, Nov 2004. ISSN 0016-5085 (Print) 0016-5085 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15521026> >.

PASCAUD, X. B.; GENTON, M. J.; BASS, P. A miniature transducer for recording intestinal motility in unrestrained chronic rats. **Am J Physiol**, v. 235, n. 5, p. E532-8, Nov 1978. ISSN 0002-9513 (Print) 0002-9513 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/727253> >.

PASKARANANDAVADIVEL, N. et al. Comparison of filtering methods for extracellular gastric slow wave recordings. **Neurogastroenterol Motil**, v. 25, n. 1, p. 79-83, Jan 2013. ISSN 1365-2982 (Electronic) 1350-1925 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22974243> >.

QUIGLEY, E. M. Gastric and small intestinal motility in health and disease. **Gastroenterol Clin North Am**, v. 25, n. 1, p. 113-45, Mar 1996. ISSN 0889-8553 (Print) 0889-8553 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8682569> >.

QUINI, C. C. et al. Employment of a noninvasive magnetic method for evaluation of gastrointestinal transit in rats. **J Biol Eng**, v. 6, n. 1, p. 6, May 15 2012. ISSN 1754-1611 (Electronic) 1754-1611 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22587220> >.

REDDY, S. N.; COLLINS, S. M.; DANIEL, E. E. Frequency analysis of gut EMG. **Crit Rev Biomed Eng**, v. 15, n. 2, p. 95-116, 1987. ISSN 0278-940X (Print) 0278-940x.

ROZEMEIRE, G. M. et al. Different patterns between mechanical and electrical activities: an approach to investigate gastric motility in a model of long-term diabetic rats. **Physiological Measurement**, v. 35, n. 1, p. 69, 2014. ISSN 0967-3334. Disponível em: < <http://stacks.iop.org/0967-3334/35/i=1/a=69> >.

SOUSA, N. A. D. **Eficácia Do Polissacarídeo Sulfatado Extraído Da Alga Marinha Vermelha Hypnea Musciformis Contra Diarreia Em Roedores**. Programa De Pós Graduação Em Biotecnologia Universidade Federal do Piauí 2016.

SOUZA, M. H. et al. Decreased gastric tone and delayed gastric emptying precede neutrophil infiltration and mucosal lesion formation in indomethacin-induced gastric damage in rats. **Braz J Med Biol Res**, v. 36, n. 10, p. 1383-90, Oct 2003. ISSN 0100-879X (Print) 0100-879X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14502371> >.

TANOVIC, A.; FERNANDEZ, E.; JIMENEZ, M. Alterations in intestinal contractility during inflammation are caused by both smooth muscle damage and specific receptor-mediated mechanisms. **Croat Med J**, v. 47, n. 2, p. 318-26, Apr 2006. ISSN 1332-8166 (Electronic) 0353-9504 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16625700> >.

THOMSON, A. B. et al. Small bowel review: normal physiology part 2. **Dig Dis Sci**, v. 46, n. 12, p. 2588-607, Dec 2001. ISSN 0163-2116 (Print)

0163-2116 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11768248> >.

WANG, X. Y. et al. Lack of pyloric interstitial cells of Cajal explains distinct peristaltic motor patterns in stomach and small intestine. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 289, n. 3, p. G539-49, Sep 2005. ISSN 0193-1857 (Print) 0193-1857 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15860643> >.

WATSON, P. F.; PETRIE, A. Method agreement analysis: a review of correct methodology. **Theriogenology**, v. 73, n. 9, p. 1167-79, Jun 2010. ISSN 1879-3231 (Electronic) 0093-691X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20138353> >.