

Departamento de Física e Biofísica

Laboratório de Biomagnetismo



## Trabalho de Conclusão de Curso

### **Modelo multiinstrumental para caracterização da atividade eletromecânica do intestino delgado**

Orientador: Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda

Graduando: Gustavo Morlin Moretto

Botucatu – SP

2014

IB/UNESP – Instituto de Biociências

Departamento de Física e Biofísica – Rubião Júnior, s/nº CP 510

Botucatu/SP – 18618-000 - Fone/fax: (14) 3811-6254/6346

e-mail: [biofisica@ibb.unesp.br](mailto:biofisica@ibb.unesp.br) – site : [www.ibb.unesp.br](http://www.ibb.unesp.br)



**Universidade Estadual Paulista**  
**“Júlio de Mesquita Filho”**  
**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**  
Campus de Botucatu



**Gustavo Morlin Moretto**

**Modelo multiinstrumental para caracterização da atividade  
eletromecânica do intestino delgado**

Monografia apresentada ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Bacharel em Física Médica.

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr. José Ricardo de Arruda Miranda

**Botucatu**  
**2014**

## RESUMO

Atualmente, o diagnóstico de doenças associadas ao intestino delgado, como a doença celíaca e a síndrome do intestino irritável aumentou. O difícil estudo deste órgão impede que tais patologias sejam adequadamente abordadas. Alguns métodos são usadas no estudo do intestino delgado fazem uso de radiação ionizante, são desconfortáveis e apresentam elevado custo. A busca por novas abordagens é extremamente importante para que se obtenha uma melhor compreensão de diferentes parâmetros deste órgão, como trânsito intestinal e atividade de contração em cada região. A técnica de biosusceptometria de corrente alternada permitiu que seja traçado um perfil de contrações mecânicas do intestino delgado. Juntamente com a BAC foram utilizados um eletrodo, através do qual foram captadas as ondas elétricas provenientes deste órgão, e também um *strain-gage* para efeitos de comparação com a BAC. O desenvolvimento de um modelo multiinstrumental permitiu que fossem traçados os perfis eletromecânicos ao longo do intestino delgado, caracterizando as contrações em suas três diferentes regiões. A frequência encontrada no duodeno variou de 400 a 450 mHz; no jejuno esta ficou entre 320 a 360 mHz e no íleo obteve-se frequências de 250 até 270 mHz. Além disso, pode-se observar claramente o gradiente decrescente de contrações no intestino delgado.

## SUMÁRIO

1.	Introdução.....	5
1.	Objetivos.....	7
2.	Materiais e Métodos .....	8
2.1	Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC).....	8
2.2	Implante cirúrgico de eletrodo, marcador magnético e <i>strain-gage</i> .....	9
2.3	Procedimento Experimental .....	10
2.4	Análise dos dados.....	11
3.	Resultados e Discussão .....	11
3.1	Duodeno .....	11
3.2	Jejuno .....	13
3.3	Íleo .....	14
4.4	Gradiente de contrações.....	15
4.5	Uso do Transdutor de Força .....	15
4.	Conclusão.....	16
5.	Referências Bibliográficas .....	17

## 1. INTRODUÇÃO

As complexas e importantes funções do trato gastrointestinal (TGI) apresentam-se essenciais à vida, atraindo a comunidade científica a realizar diversos estudos associados à fisiologia e patologias do TGI.

O intestino delgado tem importante participação na absorção de nutrientes, sendo que em suas diferentes regiões diversos hormônios participam de processos responsáveis pela absorção de vitaminas, nutrientes, proteínas, entre outros. Além disso, o bom funcionamento de sua atividade motora é de extrema importância para que seja mantido o equilíbrio do organismo.

Atualmente, em decorrência do aumento de problemas relacionados ao TGI, intensificaram-se os estudos que visam melhor esclarecer seu funcionamento, buscando soluções para a cura de diversas doenças ligadas a este, como úlceras, síndrome do intestino irritável e doença celíaca. Todavia, os atuais métodos ainda não esclareceram totalmente os mecanismos do TGI, o que gera a necessidade de criarmos novas e diferentes abordagens para tais estudos, buscando outros enfoques sobre este assunto (1).

A atividade motora do TGI é, na maioria das vezes, abordada através de registros elétricos – que captam despolarizações do tecido muscular - e mecânicos – relacionados à resposta contrátil subsequente(2). Na prática clínica, as principais técnicas utilizadas para determinar esvaziamento gástrico e tempo de trânsito gastrintestinal são a cintilografia e a radiografia seriada com marcadores radiopacos. Tais técnicas possuem baixa resolução espacial, são semi-quantitativas e necessitam de grandes doses de radiação ionizante (3). Além destes, os métodos manométricos tradicionais que envolvem cateteres de difusão de água e balões são invasivos e podem interferir e influenciar em eventos mecânicos (4). Um fator importante, é que os cateteres não apresentam boa correlação com os transdutores de força *strain-gage*, pois parecem detectar somente contrações oclusivas (5). Além disso, outro obstáculo no estudo do trato gastrintestinal é o envelhecimento e

morfologia do intestino delgado, que dificulta a utilização de técnicas embasadas no emprego radiação ionizante e tornam desconfortáveis as utilizam sondas e cateteres.

Embora apresentem desvantagens como uma possível insensibilidade a baixas contrações (6), transdutores de força *strain-gage* se tornaram o método mais usado no estudo do trânsito gastrointestinal e das contrações ocorridas neste. Todavia, vale salientar, que tal método não permite uma avaliação direta do trânsito gastrointestinal nem de contrações relacionadas a este.

A atividade motora está ligada diretamente à atividade elétrica. O eletromiograma (EMG) e o eletrogastrograma (EGG) são métodos amplamente usados para as medidas elétricas. Ambos medem diferenças de potencial elétrico, geradas por despolarizações do tecido muscular que, por sua vez, geram as contrações mecânicas. Para tanto, eletrodos são fixados na pele ou no tecido muscular, captando as atividades elétricas órgão ou músculo e relacionando-as com as atividades motoras(7), proporcionando maior entendimento sobre a motilidade intestinal.

Métodos biomagnéticos são uma boa ferramenta para o estudo do TGI, principalmente por não utilizarem radiação ionizante e serem inócuos, não interferindo na fisiologia normal do órgão. O uso de uma matriz de sensores magnéticos que mapeavam o trânsito gastrointestinal em ratos por meio de um marcador magnético em forma de cápsula administrada de forma oro-gástrica foi feita por Guignet et al (8). Porém, o uso de fórmulas capsuladas e de contenção podem interferir na fisiologia normal do intestino delgado.

A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) é uma técnica biomagnética versátil, de baixo custo, não invasiva e de boa sensibilidade.

Além da quantificação do esvaziamento gástrico (9), os principais trabalhos utilizando esta técnica são, justamente, o registro dos movimentos de órgãos como o estômago, faringe, ceco e colon, sendo que o intestino delgado ainda não fora estudado, obtidos por meio da ingestão de materiais ferromagnéticos (10-12).

O uso da BAC juntamente com um transdutor de força e um eletrodo permitirá que seja traçado um perfil eletromecânico em condições normais e

alteradas por patologias, fármacos, entre outros. A comparação entre os dados obtidos pelos registros simultâneos permitirá a avaliação da motilidade intestinal em qualquer modelo *in vivo*. Apesar de a BAC e o EMG serem técnicas de baixo custo, devemos salientar que o modelo multiinstrumental é invasivo e tem caráter exclusivamente experimental, mesmo que com a ingestão de materiais magnéticos (10, 13). Outro ponto importante, é que com a ingestão de marcadores ou traçadores magnéticos, que não interfiram na fisiologia do TGI, a BAC pode ser utilizada de maneira não invasiva, avaliando-se esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal. Com o aprimoramento de tais técnicas, será possível estudar com clareza modificações fisiopatológicas e a ação de fármacos no TGI.

Métodos que minimamente influenciam as características do TGI são ferramentas fundamentais na compreensão da função intestinal (3). Sendo que a associação de registros em experimentação animal permitirá elucidar a atividade característica do intestino, ao mesmo tempo em que serão abordadas um conjunto de diferentes técnicas para estudo e análise de importantes parâmetros da motilidade. Este trabalho, realizado no Laboratório de Biomagnetismo, Departamento de Física e Biofísica, Instituto de Biociência de Botucatu, apresenta uma proposta multidisciplinar da avaliação e caracterização das atividades intestinais, aplicando técnicas de instrumentação com baixo custo e alto desempenho, caracterizando parâmetros fisiológicos e clínicos do intestino e elucidando-o cada vez mais seu funcionamento.

## **1. OBJETIVOS**

O objetivo deste trabalho é correlacionar BAC, transdutores de força *strain-gage* e eletrodos para caracterizar a atividade eletromecânica do intestino delgado tal como o funcionamento de suas distintas regiões – duodeno, jejuno e íleo - estabelecendo um modelo multiinstrumental para avaliação e compreensão da motilidade intestinal.

A partir destes dados iremos traçar um perfil eletromecânico da atividade das diferentes regiões do intestino, buscando encontrar o gradiente de contrações amplamente discutido em modelos experimentais com cães (14), em ratos, além de estabelecer as ações de drogas que interferem neste processo, tais como o propranolol e a eritromicina.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 BIOSUSCEPTOMETRIA DE CORRENTE ALTERNADA (BAC)

A BAC é baseada no princípio de que conforme o material magnético afaste-se ou aproxime-se do sensor é gerado um sinal. No caso de contrações intestinais, ao fixarmos um marcador magnético em diferentes porções do intestino, este órgão terá contrações que afastarão ou aproximarão o marcador magnético do sensor, adquirindo sinais provenientes destas regiões.

Os sensores biomagnéticos podem ser considerados, basicamente, um par de transformadores de núcleo de ar, onde as bobinas externas funcionam como excitadoras e as internas como detectoras (arranjo coaxial). Neste tipo de avaliação, são utilizados materiais ferromagnéticos, que possuem alta susceptibilidade magnética, e respondem intensamente à aplicação de um campo magnético. A ferrita de manganês ( $\text{Fe}_2\text{MnO}_4$ ) em pó é um material que além de ferromagnético é também inerte, não apresentando alterações nas suas características físico-químicas em soluções ácidas ou básicas (15).

Para que o sensor fique balanceado e para que o ruído ambiental seja cancelado, os pares de bobinas são arranjos de maneira gradiométrica. Com a aproximação de um material magnético da bobina detectora, ocorre uma concatenação de fluxo magnético sobre esta, gerando uma força eletromotriz (*fem*) de saída proporcional à massa e a distância do material ao sensor. Esta *fem* pode ser medida, digitalizada e registrada continuamente com o auxílio de um amplificador sensível a fase *Lock-in*, uma placa analógico/digital e um computador.

Neste trabalho, será usado um sistema de multi-sensor, que será posicionado sobre a região de interesse, onde teremos a presença de uma ferrita implantada cirurgicamente.

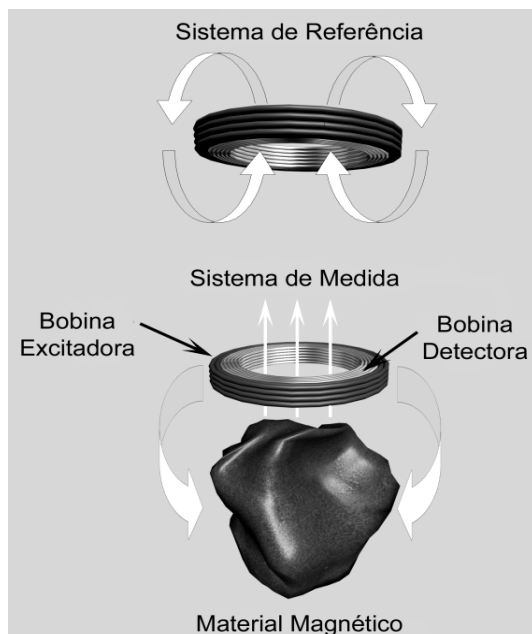


Figura 1: Esquema de funcionamento da BAC.

## 2.2 IMPLANTE CIRÚRGICO DE ELETRODO, MARCADOR MAGNÉTICO E *STRAIN-GAGE*

Para o procedimento cirúrgico, o rato permaneceu em jejum de 12 horas, em seguida foi anestesiado, através de injeção intraperitoneal (Ketamine 1ml/kg). A parede abdominal foi aberta por uma laparotomia medial e um conjunto eletrodo/ferrita/transdutor de força foi implantado nas regiões de interesse, que foram o duodeno, o jejuno e o íleo. O conjunto foi composto por um eletrodo tipo marcapasso cardíaco (Ethicon – Johnson & Johnson), uma miçanga de 0,10 g de ferrita ( $MnFe_2O_4$ ) e um transdutor de força tipo *strain-gage* fixados em um mesmo ponto. Os fios dos eletrodos e dos *strain-gage* foram conduzidos por tunelamento subcutâneo e exteriorizados através da pele por uma incisão no topo da cabeça do animal.

### 2.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus albinus* – linhagem Wistar) com peso entre 200 e 300 g, provenientes do Anilab Animais de Laboratório Criação e Comércio Ltda. (Paulínia – SP), mantidos em condições e locais adequados. Foram usados 15 animais divididos em grupos em 3 grupos com 5 animais cada. No grupo 1 foram implantados BAC, transdutor de força e strain-gage no duodeno, no grupo 2 o implante se deu no jejuno e no grupo 3 este se deu no íleo. Para cada animal foram realizadas de 3 a 4 medidas.

Para o procedimento cirúrgico, os animais foram transferidos, 12 horas antes, para gaiolas com chão de malha de arame, facilitando a deposição de fezes e evitando a coprofagia, para que ficassem em estado de jejum antes da coleta de dados.

Para o procedimento experimental, os animais foram anestesiados (pentobarbital sódico 30 mg/kg intraperitoneal) e posicionados em decúbito dorsal. Eletrodos tipo agulha arranjadas de modo diferencial foram colocadas na parede abdominal com um terra localizado na pata traseira direita para o registro do eletromiograma.

O sensor magnético (BAC) foi posicionado sobre a região abdominal e os eletrodos e transdutores de força foram conectados ao sistema de aquisição de sinais elétricos (BioPac EGG100C). A duração da aquisição de dados foi de 1 hora, com taxa de 20 Hz através de um registrador multi-canais (BioPac MP100 System) conectados a um computador.

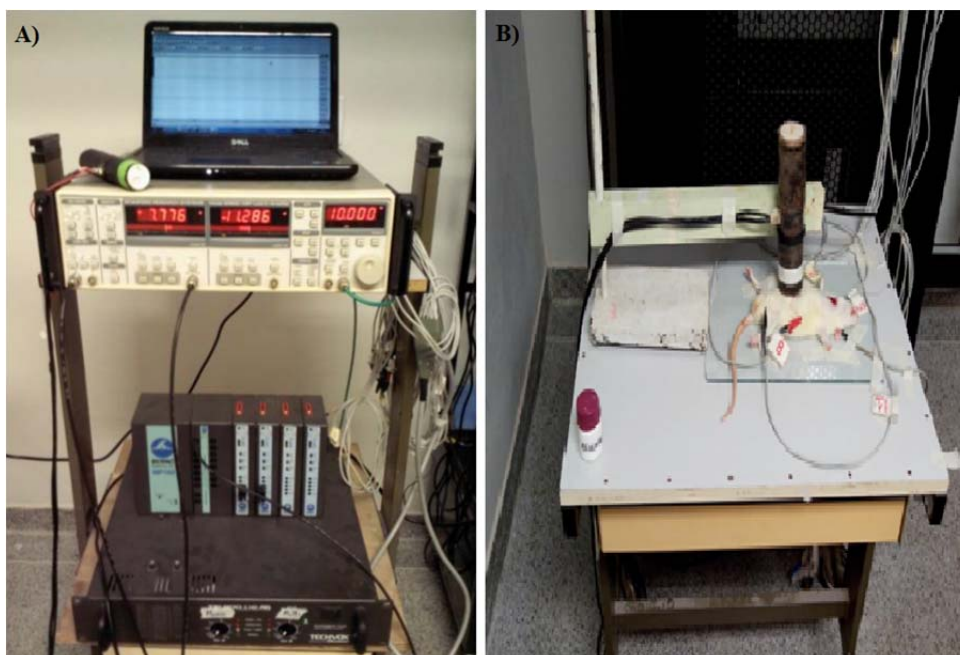


Figura 2: A) Equipamento composto por amplificador de potência, amplificador Lock-in, gradiômetro, hardware de aquisição (BioPac) e computador pessoal; B) Posicionamento do animal para aquisição de sinais da BAC, eletrodos e SG.

## 2.4 ANÁLISE DOS DADOS

Os sinais foram armazenados no formato *ASCII* e analisados em ambiente MatLab® (Mathworks, Inc.). Os sinais das diferentes técnicas e animais foram comparados em termos de amplitude e frequência através dos filtros *Butterworth* e *SavitskGolay*, além de inspeção visual da morfologia do sinal. Para análise das frequências também foi usado a Transformada Rápida de Fourier (FFT) e a análise espectral (RSA).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após realizados os experimentos, foram obtidos os seguintes resultados para as frequências de contração das diferentes porções do intestino delgado:

### 3.1 DUODENO

Para aquisição de sinais provenientes do duodeno o marcador magnético, o eletrodo e o *strain-gage* foram posicionados cerca de 5,0 cm após o piloro. Nesta região, onde o suco biliar encontra-se com o

quimo e onde ocorre a ativação de diversas enzimas digestivas devido a diferença de pH entre o estômago e o duodeno, foi encontrada uma frequência entre 400 e 450 mHz (cerca de 25 contrações/minuto). Além disso, os sinais motores (BAC) correlacionaram-se com os sinais elétricos da eletromiografia.

Na figura 3, temos o sinal filtrado proveniente do duodeno assim como a Transformada Rápida de Fourier deste. Este sinal foi obtido através da BAC.

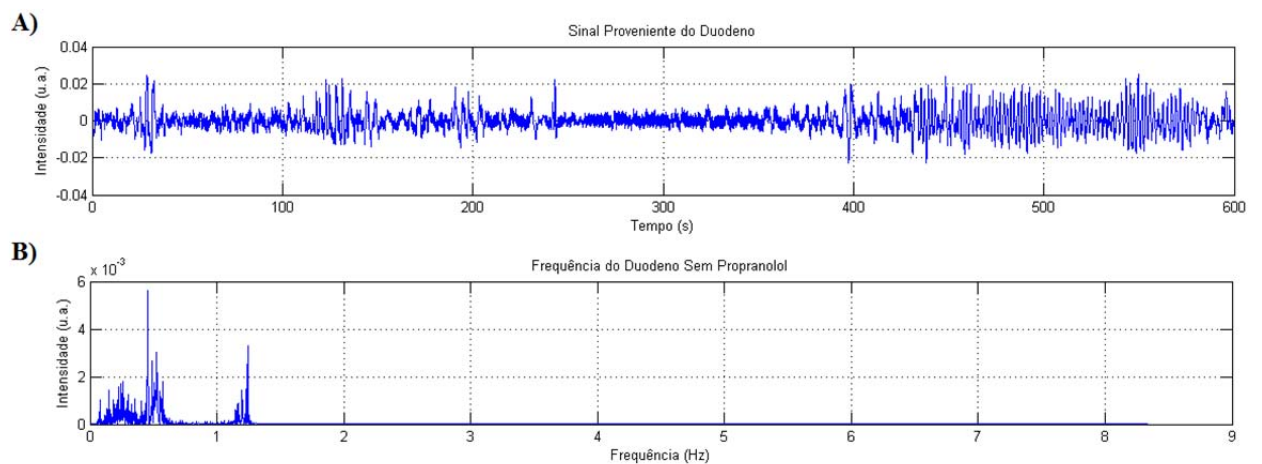


Figura 3: Em A sinal filtrado proveniente do duodeno e em B Transformada de Fourier deste sinal.

Em 3 ratos foram feitas medidas aplicando, através de canulação da artéria jugular, propranolol (2 mg/kg diluídos em 1 ml de solução para injeção), após cerca de 15 minutos de medida controle. Nestes ratos, o pico por volta dos 400 mHz foi amplificado (figura 4), mostrando que a droga aumenta a amplitude das contrações nesta porção do intestino. Quando comparado aos ratos sem a infusão de propranolol, este aumento da intensidade da frequência foi de cerca de 5,0 vezes ( $0,011 \pm 0,004$ ;  $0,050 \pm 0,008$ ).

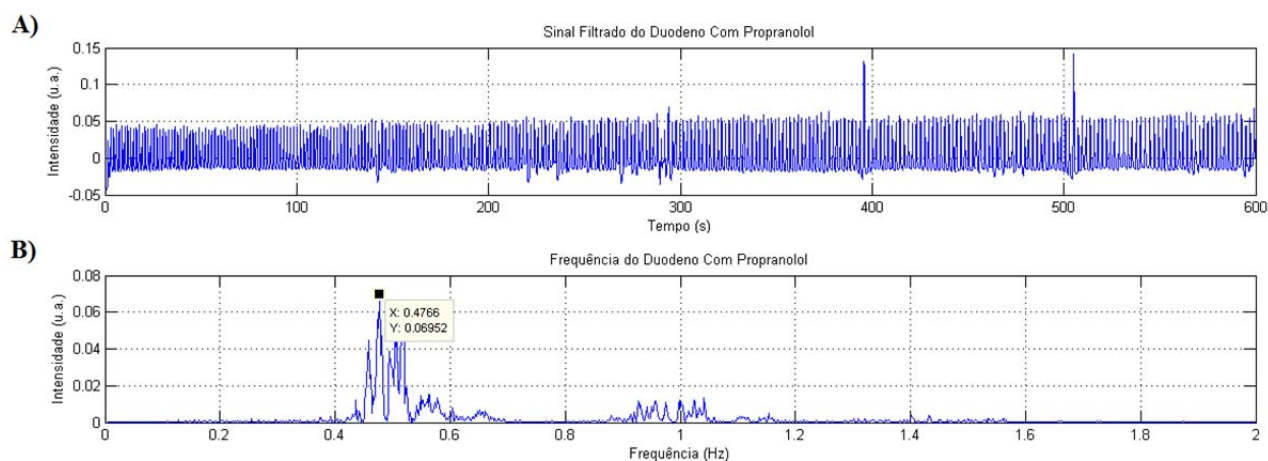


Figura 4: Em A sinal proveniente do duodeno com a infusão de propranolol; em B pico elevado no duodeno, com o uso de propranolol, de frequência em torno de 450 mHz.

### 3.2 JEJUNO

No jejuno a colocação do marcador magnético, do eletrodo e do transdutor de força se deu cerca de 20 cm após a flexura duodenojejunal, que delimita o término do duodeno e início do jejuno, tal posição é baseada na literatura, sendo o jejuno e o íleo praticamente sem diferenciação e também por isso comumente são chamados de jejuno-íleo. No jejuno, vale ressaltar sua importante função na absorção dos nutrientes provenientes dos alimentos. Nesta região, as contrações encontradas foram na faixa de 320 mHz a 360 mHz, caracterizando aproximadamente 20 contrações por minuto.

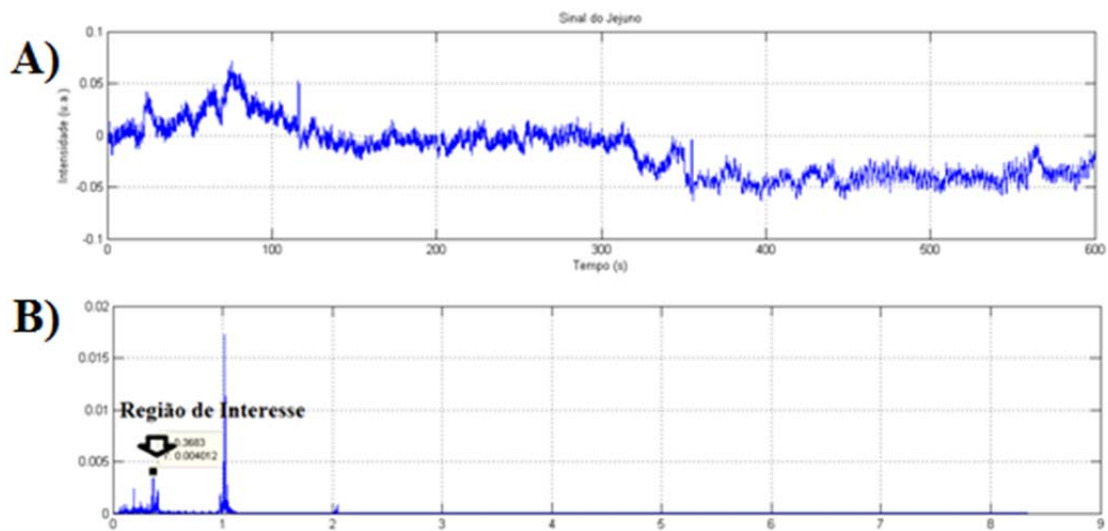


Figura 5: A) sinal proveniente do jejuno através da BAC; B) Transformada de Fourier deste sinal.

### 3.3 ÍLEO

Na porção terminal do intestino delgado foram encontradas as menores frequências. Nesta porção o quimo dirige-se ao ceco, separado do íleo pela válvula ileocecal, para posteriormente ser excretado pelo animal. Uma das principais funções do íleo é a regulação da passagem de seu conteúdo para o ceco.

Nesta região foi possível visualizar um padrão diferente entre a atividade elétrica e a motora. Utilizando o método de biosusceptometria identificou-se altas intensidades de frequência na faixa de 250 à 270 mHz, enquanto o eletromiograma mostrou intensidades mais elevadas de frequência em 350 mHz, com pequenos picos de intensidade na faixa de 250 mHz.

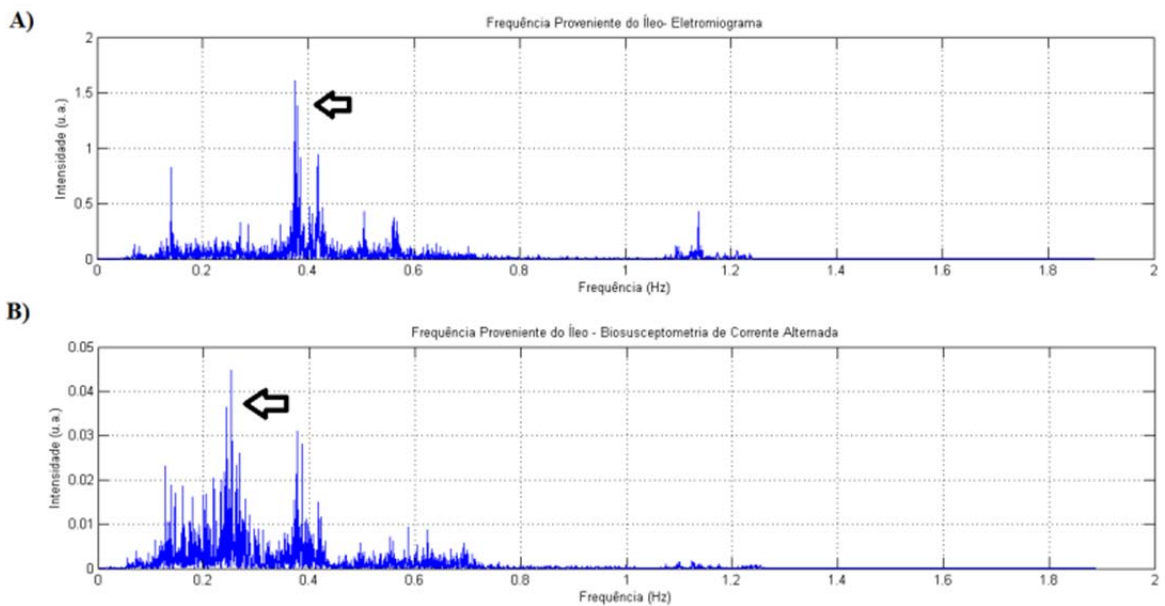


Figura 5: em A foram obtidos picos de frequência mais elevados em torno de 370 mHz através do eletromiograma. Em B obtivemos picos de frequência em torno de 250 mHz com o uso da BAC.

Este não acoplamento mecânico pode estar associado a uma atividade motora diferente da atividade elétrica. Sendo que as despolarizações ocorrem de maneira mais freqüente que as contrações mecânicas, o que fez com que obtivéssemos maior intensidade de freqüência no eletromiograma do que na BAC.

#### 4.4 GRADIENTE DE CONTRAÇÕES

É possível, portanto, obtermos com clareza o gradiente de contrações do intestino, que começa com 25 contrações por minuto no duodeno, no jejuno é cerca de 18 por minuto e decresce ainda mais no íleo, onde encontrou-se por volta de 15 contrações por minuto. Este gradiente ocorre sempre em períodos pós-prandiais e tem por função levar o quimo de maneira adequada para o ceco.

#### 4.5 USO DO TRANSDUTOR DE FORÇA

Apesar da boa correlação obtida entre a BAC e o EMG para as três regiões do intestino, foi encontrada dificuldade na realização de

medidas experimentais com o uso do transdutor de força (*strain-gage*). Os dados obtidos apresentaram-se compostos por muitos ruídos, dificultando ou impossibilitando a leitura e compreensão destes. Os poucos dados obtidos permitiram somente a correlação entre os três métodos na região do duodeno – representado na figura 6.

Os problemas encontrados em relação ao *strain-gage* estão possivelmente ligados ao encapsulamento do transdutor de força pelo intestino. Um intervalo mais curto entre os dias da cirurgia e os dias onde as medidas serão realizados estão sendo estudados, reduzindo o fator de encapsulamento sobre os problemas nas medidas experimentais.

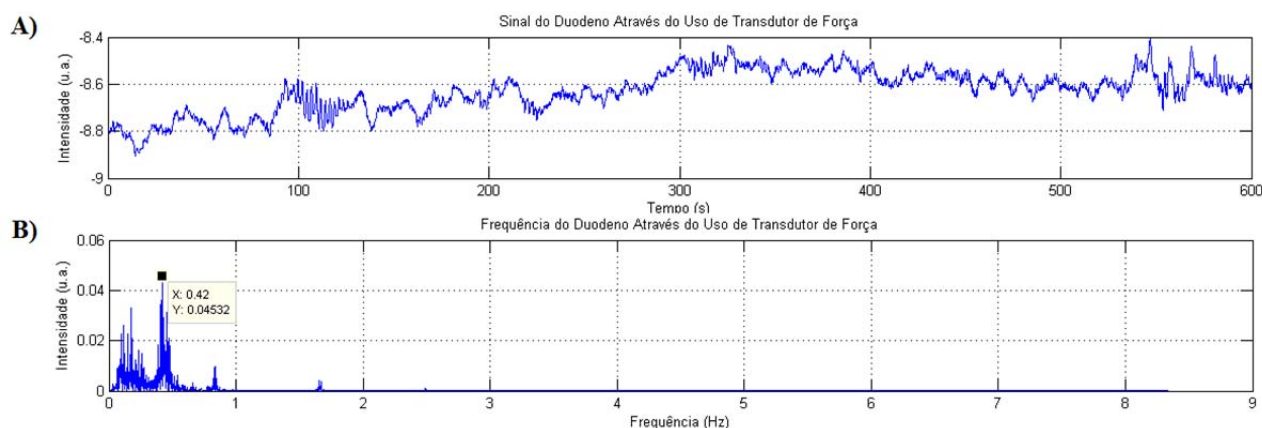


Figura 6: A) Sinal proveniente do duodeno através do uso de transdutor de força; B) Transformada de Fourier do sinal do transdutor de força, permitindo a visualização de um pico de frequência em 420 mHz.

#### 4. CONCLUSÃO

Este estudo teve por objetivo correlacionar a técnica de BAC a eletromiografia e o transdutor de força (*strain-gage*) para avaliação das contrações intestinais em ratos. A correlação entre a atividade motora, registrada pela BAC e a atividade mioelétrica, registrada pela eletromiografia, apresentou-se boa. Apesar disto, o uso do transdutor de força vem sendo aprimorado, permitindo, assim, a correlação entre este método e os outros abordados no trabalho.

Outro fator importante foi notar a ação da droga propranolol, que intensificou a amplitude das contrações intestinais na região duodenal. Nenhuma alteração foi visualizada para o fármaco eritromicina. Assim sendo, foi possível identificar com clareza as contrações encontradas nos segmentos do intestino delgado – duodeno, jejuno e íleo – estabelecendo também o gradiente decrescente de contrações em ratos no intestino.

A partir deste modelo experimental, será possível esclarecer mecanismos ligados como o trânsito gastrointestinal e o complexo mioelétrico de ratos.

## **5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Gershon MD. Review article: serotonin receptors and transporters -- roles in normal and abnormal gastrointestinal motility. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004 Nov;20 Suppl 7:3-14.
2. Martinez-de-Juan JL, Saiz J, Meseguer M, Ponce JL. Small bowel motility: relationship between smooth muscle contraction and electroenterogram signal. *Med Eng Phys.* 2000 Apr;22(3):189-99.
3. Camilleri M, Ford MJ. Review article: colonic sensorimotor physiology in health, and its alteration in constipation and diarrhoeal disorders. *Aliment Pharmacol Ther.* 1998 Apr;12(4):287-302.
4. Azpiroz F, Malagelada JR. Intestinal control of gastric tone. *Am J Physiol.* 1985 Oct;249(4 Pt 1):G501-9.
5. Sarna SK. Physiology and pathophysiology of colonic motor activity (1). *Dig Dis Sci.* 1991 Jun;36(6):827-62.
6. Huizinga JD. Electrophysiology of human colon motility in health and disease. *Clin Gastroenterol.* 1986 Oct;15(4):879-901.
7. Caruolo EV. The effect of age on the rhythmic contractions of the rat small intestine. *Lab Anim.* 1990 Jul;24(3):207-12.
8. Guignet R, Bergonzelli G, Schlageter V, Turini M, Kucera P. Magnet Tracking: a new tool for in vivo studies of the rat gastrointestinal motility. *Neurogastroenterol Motil.* 2006 Jun;18(6):472-8.
9. Quini CC, Americo MF, Cora LA, Calabresi MF, Alvarez M, Oliveira RB, et al. Employment of a noninvasive magnetic method for evaluation of gastrointestinal transit in rats. *J Biol Eng.* 2012;6(1):6.
10. Americo MF, Oliveira RB, Romeiro FG, Baffa O, Cora LA, Miranda JR. Scintigraphic validation of AC Biosusceptometry to study the gastric motor activity and the intragastric distribution of food in humans. *Neurogastroenterol Motil.* 2007 Oct;19(10):804-11.
11. Cora LA, Andreis U, Romeiro FG, Americo MF, Oliveira RB, Baffa O, et al. Magnetic images of the disintegration process of tablets in the human stomach by ac biosusceptometry. *Phys Med Biol.* 2005 Dec 7;50(23):5523-34.
12. Andreis U, Americo MF, Cora LA, Oliveira RB, Baffa O, Miranda JR. Gastric motility evaluated by electrogastrigraphy and alternating current biosusceptometry in dogs. *Physiol Meas.* 2008 Sep;29(9):1023-31.
13. Cora LA, Romeiro FG, Stelzer M, Americo MF, Oliveira RB, Baffa O, et al. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2005 Jun 15;57(8):1223-41.
14. Szurszewski JH, Elveback LR, Code CF. Configuration and frequency gradient of electric slow wave over canine small bowel. *Am J Physiol.* 1970 May;218(5):1468-73.
15. Cora LA, Romeiro FG, Americo MF, Oliveira RB, Baffa O, Stelzer M, et al. Gastrointestinal transit and disintegration of enteric coated magnetic tablets assessed by ac biosusceptometry. *Eur J Pharm Sci.* 2006 Jan;27(1):1-8.