



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Campus de Botucatu



BIOSUSCEPTOMETRIA DE CORRENTE ALTERNADA PARA AVALIAÇÃO
DE ESVAZIAMENTO GÁSTRICO E TRÂNSITO GASTRINTESTINAL
EM RATOS.

CAIO CÉSAR QUINI

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Biologia Geral e Aplicada, área de concentração *Biologia Celular Estrutural e Funcional*.

Orientador: Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda

BOTUCATU – SP

2011



unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

BIOSUSCEPTOMETRIA DE CORRENTE ALTERNADA PARA AVALIAÇÃO
DE ESVAZIAMENTO GÁSTRICO E TRÂNSITO GASTRINTESTINAL
EM RATOS.

CAIO CÉSAR QUINI

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ RICARDO DE ARRUDA MIRANDA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Biologia Geral e Aplicada, área de concentração *Biologia Celular Estrutural e Funcional*.

Orientador: Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda

BOTUCATU – SP

2011

Programa de Pós-graduação em Biologia Geral e Aplicada
Distrito de Rubião Júnior s/n CEP 18618-000 Cx Postal 510 Botucatu-SP Brasil
Tel (14) 3811-6148 Fax (14) 3811-6148 posgraduacao@ibb.unesp.br

À minha mãe, meu pai

e minha irmã.

Resumo

O trato gastrointestinal (TGI) constitui um grupo de importantes atividades motoras, essencial à vida. Uma série de metodologias é empregada no estudo dessas atividades e das patologias a elas associadas. No entanto, estas técnicas são geralmente invasivas, requerem cirurgia, inserção do cateter, ou, para a construção de um modelo temporal destas funções, demandam o sacrifício de uma série de animais na obtenção dos dados necessários. A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) é uma técnica biomagnética de baixo custo, portátil, não-invasiva, livre de radiação ionizante, que pode ser utilizada para avaliar as propriedades do TGI pelo monitoramento da posição e concentração de materiais ferromagnéticos, usados como marcadores magnéticos.

O objetivo desta dissertação foi, através de um sistema BAC associado a marcadores magnéticos, apresentar uma nova forma de analisar propriedades do trato gastrointestinal, como o esvaziamento gástrico e tempo de trânsito gastrointestinal, de alimentos sólidos e líquidos em modelos animais de pequeno porte.

Um sistema dedicado foi construído para analisar estas propriedades. A instrumentação consiste em dois pares de bobinas, um de referência e outro para a detecção. Cada par é composto por uma bobina de excitação e uma detecção. Uma linha de base fixa separa os pares de detecção e referência, e funciona também como suporte para a instrumentação. Também é importante ressaltar que as bobinas de detecção são dispostas em uma configuração gradiométrica.

Seu princípio de funcionamento baseia-se em um transformador de fluxo magnético, que o par (excitação e detecção), localizado mais distante da amostra magnética funciona como uma referência para o sistema. Assim, quando se aproxima um material magnético do sensor, o equilíbrio criado entre as duas faces do sensor será quebrado. Este desequilíbrio pode ser medido, digitalizado e adquirido. O traçador magnético utilizado na determinação dos parâmetros de trânsito de alimentos líquido foi um fluido superparamagnético revestido com quitosana comercial. Para estudar o trânsito de alimentos sólidos, foi usado ferrita como traçador.

Em ambos os experimentos, a aquisição de dados foi obtida pela aproximação do sensor magnético do estômago e do cólon do animal em intervalos pré-determinados. A partir destes dados foi construída uma distribuição temporal do alimento pelo trato do animal, dando ênfase, principalmente ao esvaziamento gástrico e trânsito orocecal de alimentos sólidos e líquidos em cada rato.

Este trabalho apresenta um novo método para analisar e avaliar propriedades do trato gastrointestinal, com as vantagens de ser uma técnica não-invasiva e livre de radiação ionizante. Uma vez consolidada a viabilidade desta técnica, será possível expandir os limites de aplicação do sistema e avaliar todos estes parâmetros sob influência de drogas e estados patológicos, não só em modelos animais de médio e grande porte, mas também em humanos.

Abstract

The gastrointestinal tract (GIT) motor activities constitute an important group, essential to life. A series of methodologies is employed in the study of these activities and its associated pathologies. However, these techniques are generally invasive, require surgery, catheter insertion or, in the temporal model construction issue, require the sacrifice of a series of animals to record the necessary data. The Biosusceptometry of Alternate Current (BAC) is a low cost biomagnetic technique, portable, non-invasive and radiation free, which can be used to evaluate GIT properties by monitoring position and concentration of ferromagnetic materials when used as magnetic markers.

The objective of this dissertation was to present a new way to measure GIT properties like gastric emptying and gastrointestinal transit time of both solid and liquid food in small animal models, using the BAC system associated with magnetic markers.

A dedicated biosusceptometry system was constructed to analyze these particular properties. The instrumentation is constituted of two coil pairs, one for reference and another for detection. Each pair consists of an excitation coil and a detection one. A fixed baseline separates the detection and reference pairs, and works also as support to the instrumentation. It is also important to point that the detection coils are arranged in a gradiometric connection.

Its working principle is based on a magnetic flux transformer, which the pair (excitation and detection) located farther from the sample works as a reference. Thus, when approaching a magnetic material to the sensor, the balance created between the two faces of the sensor will be broken. This imbalance can be measured, digitalized and acquired. The magnetic tracer used in the liquid transit determination was a commercial superparamagnetic fluid coated with chitosan and, to study the solid food transit, was used Ferrite as magnetic tracer.

In both experiments, the data acquisition was obtained by approaching the magnetic sensor of the stomach and colon of the animal at pre-determined intervals. From these results, was constructed a temporal distribution of the food through the animal tract, emphasizing the gastric emptying and orocecal transit time for both solid and liquid food in each rat.

This work presents a new method to study and evaluate properties of the gastrointestinal tract, with the advantages of being a non-invasive and radiation free technique. Once this analysis viability consolidated to small animal models, will be possible to expand the application limits of the system, evaluate all these parameters under drug and pathological states influence, not only in bigger animal models, but also in humans.

Agradecimentos

A **Deus**.

Ao meu pai, **João**. Penso em você todos os dias.

À minha mãe, **Ana**, pela dedicação, carinho, por todos os conselhos, bons, ruins e malucos. Por ser meu principal pilar. O maior exemplo de integridade, bondade, força e amor em minha vida.

À minha irmã, **Cíntia**, pela dose diária de bom humor e alegria. “Minha vida é muito mais engraçada por tua causa”. Minha parceira mais fiel. Obrigado pela cumplicidade.

Aos meus avós, **Pedro e Dina**. Meu sentimento por vocês não cabe aqui. Vocês são fantásticos.

A toda minha família, pela educação, pelo amor incondicional. Meu orgulho, minha parte mais maluca e a melhor parte de mim, meu ponto forte. Obrigado por me dar um lugar pra onde vou querer sempre voltar.

Aos amigos, “velhos e novos”, mesmo já estando todos um pouco mais velhos que novos. Sejam os que moram a duas quadras da minha casa ou os que estão em outro continente.

Obrigado aos “bagunceiros” que são minha má influência desde a quarta série, aos futuros físicos, com quem eu jogava videogame ao invés de estudar pra Física Matemática, ou Termodinâmica, ou Quântica, etc.

Aos que se “formaram em atlética” junto comigo e também acham isso fantástico. Aos outros malucos que também acreditam que vale a pena largar o que estiver fazendo pra jogar futebol às onze da noite de uma sexta-feira, mesmo já tendo treinado duas vezes no mesmo dia.

Acredito que seja um bom sinal não conseguir citar os nomes de todos. Com certeza, ter a amizade de todos vocês na minha vida me fez ser uma pessoa melhor.

À **Larissa**, por ser sempre o ponto alto do meu dia. Sempre a melhor companhia.

Ao professor, orientador, amigo, **José Ricardo**. Pela confiança, pelo tempo e pelas oportunidades. Por ser um exemplo de físico, de profissional e o mais importante, de pessoa.

Ao pessoal do **Laboratório de Biomagnetismo**, que se tornou um grupo de amigos, que se tornou uma família, da qual sinto muito orgulho de fazer parte.

À **Diana**, pelos conselhos, pela oportunidade e pela monitoria.

À **Madileine** e à **Luciana**, pelas boas idéias e por nos ajudarem até hoje.

Ao **Fabiano** por todas as dicas, conselhos e pela primeira oportunidade de estágio. Ao **Uilian**, por acreditar em mim e por toda força. Obrigado por todos os conselhos, desde a iniciação. Ao **Murilo** pela paciência com que sempre me ensinou tudo. Ao **Paulo** e ao **Marcelo**, que desde o primeiro momento me ajudaram em todos os momentos, com o Lockin, com o MatLab, com o Labview, com o Word ou com a cafeteira.

Ao **Matheus** pela dose de insanidade diária e pelas rotinas, sem as quais, este trabalho não seria realizado.

Ao **Alexandre**, pelas discussões sobre os artigos, sobre radiodiagnóstico, a vida, o universo e tudo mais.

Ao **Rafael**, pela parceria desde o Laboratório de Instrumentação Médica.

À **Marcela**, pelas opiniões sempre coerentes e à **Ana**, pelo adaptador, além da amizade, é claro.

Ao **Marcos**, que era amigo, virou amigo e professor de violão. Hoje é amigo, companheiro de trabalho, professor de violão e de português. Companheiro de biomagnetismo, obrigado pela paciência de corrigir este trabalho comigo linha a linha.

Ao **Ronaldo** pela amizade e pelos artigos. Ao **Daniel, Júlio, David, Luiz Gustavo, Juliana, Bruna** e todos os alunos de IC pela ajuda em todos os experimentos e com o tratamento dos ratos. A realização deste trabalho, bem como de todos os outros desenvolvidos em nosso laboratório não seria possível sem a ajuda de cada um de vocês.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, ao Instituto de Biociências de Botucatu, ao Departamento de Física e Biofísica e aos professores da graduação, pela infraestrutura e pela formação, sem a qual este trabalho não teria sido escrito.

Lista de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1: Configuração de um sistema BAC..... | 5 |
| Figura 2: Sensor de um Sistema BAC..... | 6 |
| Figura 3: Esquemática do teste de caracterização axial..... | 11 |
| Figura 4: Esquemática do teste de caracterização tangencial..... | 12 |
| Figura 5: Ilustração com as regiões de interesse do animal. | 14 |
| Figura 6: Gráfico da variação da Intensidade em função da posição para a caracterização axial..... | 16 |
| Figura 7: Perfil de decaimento da intensidade do sinal medido em função da posição em escala dilog..... | 17 |
| Figura 8: Gráfico da variação da Intensidade em função da posição para a caracterização tangencial a 1 cm..... | 19 |
| Figura 9: Gráfico da variação da Intensidade em função da posição para a caracterização tangencial a 3 cm..... | 19 |
| Figura 10: Gráfico da variação da Intensidade em função da posição para a caracterização tangencial a..... | 20 |
| Figura 11: Gráfico da variação da espessura de cada pico obtido em função da distância (d)..... | 21 |
| Figura 12: Gráfico referente à variação da Intensidade de sinal medida em função do tempo para esvaziamento gástrico de sólidos. | 22 |
| Figura 13: Gráfico referente à variação da Intensidade de sinal medida em função do tempo para trânsito gastrintestinal de sólidos. | 23 |
| Figura 14: Gráfico referente à variação da Intensidade de sinal medida em função do tempo para esvaziamento gástrico de líquidos..... | 24 |
| Figura 15: Gráfico referente à variação da Intensidade de sinal medida em função do tempo para trânsito gastrintestinal de líquidos..... | 25 |

Lista de tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1: Comparação entre os sensor 1 (novo) e 2..... | 10 |
| Tabela 2: Dados referentes ao esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de alimentos sólidos para cada rato analisado. | 24 |
| Tabela 3: Dados referentes ao esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de alimentos líquidos para cada rato analisado..... | 25 |

Sumário

| | |
|---|-----|
| RESUMO | I |
| ABSTRACT | III |
| AGRADECIMENTOS | V |
| LISTA DE FIGURAS | IX |
| LISTA DE TABELAS..... | X |
| SUMÁRIO..... | XI |
| I. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| II. OBJETIVOS | 4 |
| III. MATERIAL E MÉTODO | 5 |
| Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) | 5 |
| Metodologia do Sistema BAC..... | 6 |
| Modelo Físico para a BAC | 7 |
| Desenvolvimento do Novo Sensor | 8 |

| | |
|--|-----------|
| Teste de Sensibilidade e Resolução Axial..... | 11 |
| Teste de Sensibilidade e Resolução Tangencial..... | 11 |
| Descrição dos testes para sólidos e líquidos..... | 13 |
| Testes com alimentos sólidos..... | 13 |
| Testes com alimentos líquidos..... | 13 |
| IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 16 |
| Caracterização do Sensor..... | 16 |
| Sensibilidade Axial..... | 16 |
| Caracterização Tangencial | 18 |
| Avaliação dos Parâmetros de Trânsito | 22 |
| Trânsito de Alimentos Sólidos..... | 22 |
| Trânsito de Alimentos Líquidos..... | 24 |
| V. CONCLUSÃO..... | 28 |
| VI. BIBLIOGRAFIA..... | 30 |
| VII. ANEXOS | 32 |
| Anexo a | 32 |

1. Introdução

A motilidade gastrointestinal possui um importante papel na absorção de nutrientes e administração de fármacos e o desempenho destas funções pode ser afetado por diversas doenças e disfunções que acometem o trato gastrointestinal (TGI). A avaliação de parâmetros como tempo de trânsito de alimentos em diferentes seguimentos do TGI, esvaziamento gástrico e atividade de contração gastrointestinal é fundamental na análise e no diagnóstico destas patologias e em estudos de efeitos de fármacos na motilidade do trato.

Para o estudo destes parâmetros, podem ser empregadas diversas técnicas. Algumas são limitadas a avaliar apenas a atividade de contração, como a manometria. Este método, além de possuir alto grau de invasividade e causar grande desconforto, é falho devido à oclusão luminal e ao fato de que o próprio método pode interferir e influenciar nos eventos mecânicos do trato (AZPIROZ e MALAGELADA 1985). O método consagrado, utilizado para análises de motilidade e também parâmetros de trânsito é a cintilografia por gama câmera. Este método fornece medidas diretas através da quantificação não invasiva de parâmetros do TGI. No entanto, este método não apresenta uma padronização adequada em termos de composição do alimento teste, posicionamento do paciente ou ainda tempo de aquisição das imagens. Desta forma, as imagens e os resultados obtidos podem variar de acordo com o protocolo utilizado (SZARKA e CAMILLERI 2009). Ainda é importante ressaltar que este é um método de custo elevado, que apresenta baixa resolução espacial, necessita de um ambiente adequado para sua realização e envolve a exposição do paciente à radiação ionizante (SZARKA e CAMILLERI 2009), (CAMILLEERI e FORD 1998).

Na construção de modelos animais de esvaziamento e motilidade gástrica são utilizadas rações teste marcadas, geralmente com carvão ativado ou vermelho fenol (BAGGIO, et al. 2003), (GARRICK 1988), (KACKER A, MEHTA B e GUPTA 1999). Estes procedimentos consistem na ingestão de alimento marcado com uma destas substâncias, e posterior monitoramento, em intervalos pré-determinados, da quantidade de marcador presente no estômago e intestino através da distância percorrida por estes alimentos dentro do TGI do animal. Desta forma, é possível se obter uma curva da variação de volume do material no estômago, que

corresponde ao esvaziamento gástrico. Através do deslocamento do marcador dentro do TGI, é possível determinar a motilidade gastrointestinal do animal (trânsito). No entanto, estes métodos dependem de fatores inerentes a cada amostra, como elasticidade e dimensões do trato, além de resultarem em medidas indiretas de parâmetros do trato. Ainda assim, a grande desvantagem destas técnicas reside do fator invasividade, pois estes métodos geralmente necessitam de pequenas cirurgias, inserções de cateter e, no caso da construção de um modelo temporal dos parâmetros de trânsito, envolvem o sacrifício de um grande número de animais (BAGGIO, et al. 2003) (GARRICK 1988) (KACKER A, MEHTA B e GUPTA 1999).

Outra técnica bastante utilizada é o método de marcação com isótopos, como o carbono (C^{13}), na qual é monitorada a taxa de Dióxido de Carbono (CO_2) expirado pelo animal após ingestão do alimento marcado. Desta forma é possível estimar a taxa de esvaziamento gástrico do animal pela comparação entre estes valores obtidos e a quantidade de material inicialmente aplicada. Neste caso, os resultados podem ser obtidos em tempo real e os animais submetidos ao teste não precisam ser sacrificados. Porém, este procedimento também fornece medidas indiretas e ainda envolvem um custo mais elevado, pois os animais precisam estar isolados em cubas para os experimentos e a instrumentação, além de alto custo, também demanda um ambiente adequadamente controlado para realização (CAMILLERI, et al. 1998), (MAES, et al. 1998).

As técnicas biomagnéticas vêm se destacando nesta área por apresentarem características positivas, como o fato de não serem invasivas, não utilizarem radiação ionizante e também por fornecerem os dados referentes à motilidade e esvaziamento gástrico em tempo real, de forma direta. Neste contexto, nos últimos anos, a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) provou ser uma excelente alternativa biomagnética para medir, avaliar e analisar diferentes parâmetros relacionados ao estudo do TGI, de suas funções motoras e da avaliação do encaminhamento (liberação) de formas de dosagem sólidas. Esta técnica foi desenvolvida e aprimorada na década de 1990 por Baffa, Miranda e colaboradores para avaliar a fisiologia do trato gastrointestinal de humanos (MIRANDA, BAFFA, et al. 1992), (BAFFA, et al. 1995), (MIRANDA, OLIVEIRA, et al. 1997). Desde então, o sistema vem sendo aprimorado e otimizado e atualmente, apresenta considerável precisão na avaliação do esvaziamento (OLIVEIRA, et al. 1996), (MIRANDA, BAFFA, et al. 1992), (BAFFA, et al. 1995) e da atividade de contração gástrica (ACG) em humanos (MIRANDA, OLIVEIRA, et al. 1997) e cães (R MORAES, et al. 2003)], distribuições intragástrica de refeições de pequenos volumes (AMÉRICO, Distribuição Intragástrica de uma Refeição com Pequeno Volume avaliada por Cintilografia e Biomagnetismo. 2003) e no processo de liberação de fármacos (CORÁ, et al.

2006), (ANDREIS, et al. 2008). Para modelos animais de pequeno porte, a BAC foi recentemente validada como uma técnica eficaz na determinação e avaliação da motilidade gastrointestinal (AMÉRICO, et al. 2010)

Os principais trabalhos utilizando o sistema BAC são baseados no registro dos movimentos obtidos por meio da ingestão de materiais ferromagnéticos [(BAFFA, et al. 1995), (AMÉRICO, Distribuição Intragástrica de uma Refeição com Pequeno Volume avaliada por Cintilografia e Biomagnetismo. 2003), (CORÁ, et al. 2006), (ANDREIS, et al. 2008)]. Até o presente, todas as aplicações com BAC empregam micro partículas (50 – 100 μ) de óxido de ferro com manganês (ferrita, $MgFe_2O_4$), pois apresentam maior susceptibilidade magnética e não são absorvidas, sendo consideradas inerte. Atualmente existe a possibilidade de empregar materiais nanoestruturados, como nanopartículas magnéticas que também se apresentam na forma de fluidos ferromagnéticos, o que torna possível a avaliação da motilidade e do trânsito de alimentos líquidos.

Desta forma, neste estudo foi realizado uma avaliação do tempo de trânsito orocecal e esvaziamento gástrico de sólidos e líquidos empregando a biosusceptometria AC em pequenos animais (ratos).

11. Objetivos

Este estudo, desenvolvido no Laboratório de Biomagnetismo do Departamento de Física e Biofísica do Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, teve por objetivo avaliar o esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de alimentos sólidos e líquidos em ratos, com os seguintes objetivos específicos:

- Construir e caracterizar um sistema BAC específico em termos de relação sinal-ruído, resolução espacial e sensibilidade para análises de parâmetros do TGI em pequenos animais;
- Comparar o desempenho deste novo sistema frente a um sensor utilizado nos experimentos realizados em animais de maior porte;
- Utilizar este novo sensor para avaliar o esvaziamento gástrico de alimentos sólidos, marcados com ferrita em pó, e líquidos, marcados com nanopartículas magnéticas;
- Construir um modelo de distribuição temporal do alimento marcado a partir da análise do trânsito em regiões de interesse do TGI.

III. Material e método

Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC)

A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) consiste na aplicação de um campo magnético de corrente alternada em um meio biológico e, através de bobinas de detecção, mede-se o campo magnético proveniente da interação entre o primeiro campo induzido e o meio analisado através de traçadores/marcadores magnéticos no tecido. A instrumentação, ilustrada na figura 1, é composta por dois pares de bobinas idênticas, um de detecção e outro de referência. Os dois pares estão conectados em configuração gradiométrica (subtração) de primeira ordem.

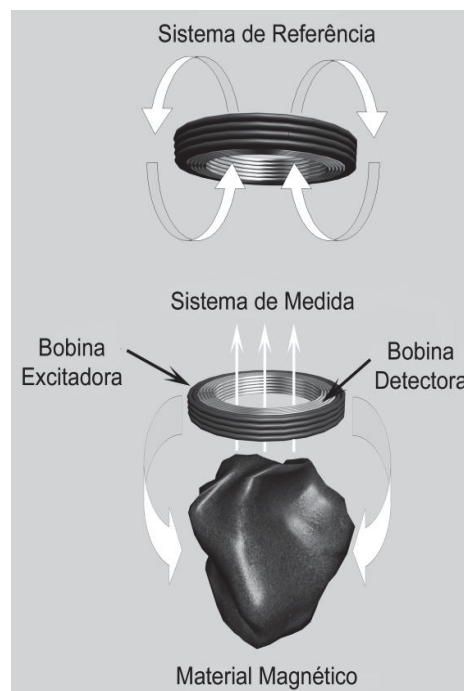


Figura 1: Configuração de um sistema BAC

O valor de campo medido pelo sistema de detecção é subtraído do valor registrado pelo sistema de referência, desta forma é possível diminuir a influência do ruído intrínseco ao sistema e também simplificar os cálculos para formulação do modelo físico do sistema. Outra vantagem do arranjo gradiométrico da instrumentação está na diminuição da tensão detectada,

o que aumenta significativamente a relação sinal-ruído do sistema. A BAC diferencia e detecta estruturas através da variação da susceptibilidade magnética inerente a cada material.

Metodologia do Sistema BAC.

A figura 2 ilustra um sensor de um sistema BAC. Como pode ser observado, o sensor é constituído por dois pares idênticos de bobinas sendo a mais externa (A) a bobina de excitação e a mais interna (B) a de detecção.

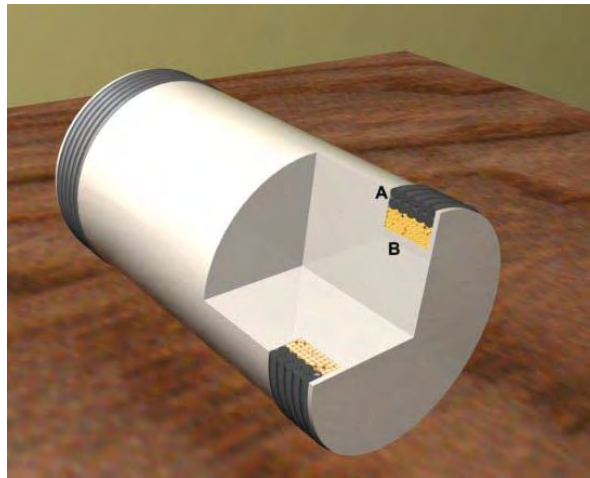


Figura 2: Sensor de um Sistema BAC

As bobinas de excitação são alimentadas com uma tensão alternada, gerada com frequência e amplitude precisamente controladas através de um amplificador Lock-in e em seguida, amplificadas em um amplificador de potência. O campo gerado deverá induzir um campo magnético idêntico nas bobinas de detecção e de referência. Graças à configuração gradiométrica, esses campos se cancelam, criando um equilíbrio no sistema, que será afetado apenas por fatores externos, como um marcador ou traçador magnético.

As medidas são feitas da seguinte forma: é selecionada uma área de interesse, onde esteja localizado o material magnético (traçador magnético) e esta área é varrida pelo sistema, ilustrado na figura 2. Desta forma é adquirido um valor de tensão induzido na bobina detectora, correspondente à variação do campo magnético gerado pela bobina de detecção. Essa variação de campo será proporcional à susceptibilidade magnética, à posição e à quantidade de material magnético presente na região analisada.

Modelo Físico para a BAC

Para a susceptibilidade magnética, temos que

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

em que \vec{M} representa a magnetização do elemento e \vec{H} a intensidade magnética (REITZ, MILFORD e CHRISTY 1982).

Se o valor de χ do elemento for muito menor do que 1 ($\chi \ll 1$), pode ser aproximado para $\chi - \mu_0 \frac{M}{B}$, onde \vec{B} corresponde à indução magnética e μ_0 à permeabilidade magnética no vácuo (BASTUSCHECK e WILLIAMSON 1985).

É possível medir a susceptibilidade magnética de um corpo aplicando-se a ele um determinado campo magnético \vec{B}_a . Assim, o campo magnético em qualquer ponto do corpo será $\vec{B}_a + \vec{B}_s$, onde \vec{B}_s é o campo resultante da magnetização da amostra, que corresponde às contribuições do campo aplicado e do campo induzido. Desta forma, em relação a uma bobina de referência, que não está sob influência da magnetização da amostra, a variação do fluxo magnético ($\Delta\Phi_d$) medida pela bobina de detecção do sistema será referente apenas a \vec{B}_s . Então teremos

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

Para levar em consideração o efeito de um campo magnético não uniforme em um determinado corpo, é interessante descrever o fator \vec{B} em função do potencial vetorial magnético. Desta forma

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

$$\vec{A} = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{\vec{m} \times \vec{r}}{r^3}. \quad (4)$$

Assim, é possível reescrever a equação (2) na forma

$$\Delta\Phi_d = \frac{\mu_0}{4\pi} \int \nabla \times \frac{\vec{m} \times \vec{r}}{r^3} d\vec{a}. \quad (5)$$

Aplicando o Teorema de Stokes e rearranjando o produto vetorial, obtêm-se

$$\Delta\Phi_d = \frac{\mu_0}{4\pi} \int \frac{\vec{m} \times \vec{r}}{r^3} \cdot d\vec{l}, \quad (6)$$

$$\Delta\Phi_d = \frac{\mu_0}{4\pi} \vec{m} \cdot \int \frac{\vec{r} \times d\vec{l}}{r^3}, \quad (7)$$

onde $d\vec{l}$ corresponde à linha elementar para integração em torno da bobina de detecção. Neste caso, também se considera que, pelo Teorema da Reciprocidade, a bobina detectora seja ener-

gizada por uma corrente I_R , fluindo na mesma direção de $d\vec{l}$. Então, pela lei de Biot-Savart, o campo magnético \vec{B}_R originado por I_R em qualquer ponto x da linha $d\vec{l}$ será dado por

$$\vec{B}_R = \vec{I}_R \frac{\mu_0}{4\pi} \int \frac{d\vec{l} \times \vec{x}}{x^3}. \quad (8)$$

Considerando que $\vec{x} = -\vec{r}$, podemos reescrever a equação 7 na forma

$$\Delta\Phi_d = \vec{m} \cdot \frac{\vec{B}_R}{I_R}, \quad (9)$$

como o momento de dipolo magnético é dado por

$$\vec{m} = \vec{M}dV = \left(\chi \frac{\vec{B}_a}{\mu_0}\right) dV, \quad (10)$$

a contribuição para o fluxo magnético total desta porção infinitesimal de volume dV será dada pela expressão

$$\Delta\Phi_d = \frac{1}{\mu_0 I_R} \chi \vec{B}_a \cdot \vec{B}_R dV. \quad (11)$$

Como \vec{B}_a e \vec{B}_R são conhecidos em qualquer ponto, é possível reescrever a equação 48 de forma mais geral, isto é

$$\Phi = \frac{1}{\mu_0 I_R} \int_{vol} \chi(x) \vec{B}_a(x) \cdot \vec{B}_R(x) d^3x, \quad (12)$$

considerando x uma variável genérica para integração em qualquer coordenada (BASTUSCHECK e WILLIAMSON 1985).

A partir da equação (12), considerando que todos os parâmetros intrínsecos ao sistema como campo magnético e corrente aplicada, sejam constantes, a variação do fluxo magnético medida pelos sensores irá depender diretamente da variação da susceptibilidade magnética do corpo. Sendo assim, pode-se reescrever a equação 49 de forma geral.

$$\Delta\Phi = S\Delta\chi, \quad (13)$$

sendo o fator S relacionado com a instrumentação e com os aspectos intrínsecos ao sistema.

Desenvolvimento do Novo Sensor

A partir do modelo teórico descrito, foi possível verificar os parâmetros físicos que regem o funcionamento do método de biosusceptometria e assim, estimar as especificações ideais de um sensor dedicado, específico para medidas de trânsito em pequenos animais.

Pela equação 12, é possível perceber que os principais fatores que influenciam a variação do fluxo magnético (Φ) são os campos magnéticos, aplicado e induzido (\vec{B}_a e \vec{B}_s , respec-

tivamente), além da corrente recíproca induzida (\vec{I}_R) de volta na bobina. Analisando as equações anteriores que levam à equação 12, nota-se que esses parâmetros dependem de fatores intrínsecos à construção do sensor magnético.

Basicamente, os fatores campo magnético e corrente elétrica induzidos na amostra, são obtidas a partir do campo gerado pela corrente que percorre as bobinas de excitação do sistema. Esta corrente, por sua vez é influenciada pela impedância total das bobinas, pela tensão de excitação aplicada e sua frequência. Além destes parâmetros, o campo de excitação do sistema é influenciado pelas as dimensões físicas das bobinas, como diâmetro da bobina e bitola do fio utilizado.

Com o objetivo de melhorar a resolução do sistema, o novo sensor foi idealizado com menor área de detecção, menor impedância das bobinas de excitação e maior razão entre o número de voltas das bobinas de detecção e de excitação.

Analisando o campo magnético gerado em termos da sua dependência de fatores geométricos, é possível perceber que no centro da bobina de excitação, o campo será influenciado pelo inverso do raio da bobina de excitação (REITZ, MILFORD e CHRISTY 1982). Desta forma, é possível notar que o campo magnético gerado irá depender não só de fatores referentes ao número de voltas de cada bobina ou da bitola do fio escolhido para a construção da instrumentação, mas também da escolha de fatores geométricos, como a área de detecção do sensor, que deverá influenciar diretamente no perfil do campo magnético formado pela bobina.

Assim, todos esses parâmetros e grandezas podem ser arranjados de forma a se obter uma configuração, em termos de relação sinal-ruído, sensibilidade e resolução espacial, de acordo com a necessidade de cada sistema. A partir destas considerações foi construído um sensor biomagnético específico para medidas de trânsito em pequenos animais.

O objetivo desta nova configuração foi obter uma resolução espacial maior, considerando que a área de detecção seria menor, mesmo que houvesse perda na sensibilidade ou alcance do sistema. Já que o sensor foi construído com o propósito de medir parâmetros de trato em pequenos animais, diferente dos sensores anteriores.

Para garantir essas características específicas do novo sensor, foram conduzidos testes de caracterização *in vitro* para o sistema e estes dados obtidos foram comparados com a mesma caracterização de um sistema já utilizado previamente em outras medidas. A tabela 1 mos-

tra a comparação entre os parâmetros do novo sensor desenvolvido e outro já utilizado nas rotinas no Laboratório de Biomagnetismo.

Tabela 1: Comparação entre os sensor 1 (novo) e 2

| Sensores | 1 | 2 |
|--|----------|----------|
| Linha de Base (cm) | 15 | 15 |
| Diâmetro (cm) | 3 | 4 |
| Área (cm²) | 28,27 | 50,27 |
| Especificações da Bobina Detectora | | |
| Número de Voltas | 500 | 280 |
| Bitola do Fio (mm) | 32 | 34 |
| Especificações da Bobina Excitadora | | |
| Número de Voltas | 200 | 150 |
| Bitola do Fio (mm) | 26 | 30 |
| Resistência (Ω) | 3,6 | 4,3 |
| Especificações do Circuito | | |
| Tensão Aplicada (mV) | 0,5 | 0,5 |
| Amplificação do Sistema (dB) | -3 | -3 |
| Corrente Elétrica Total (mA) | 88,1 | 63,3 |
| Frequência (kHz) | 10 | 10 |

Para a caracterização dos sensores, foram realizados testes para medir a sensibilidade, ou alcance, de cada sistema e sua resolução espacial. Basicamente, estes experimentos consistiram em verificar a variação da intensidade do sinal medido em cada um dos sensores em relação à variação da posição de um material magnético (comprimido de ferrita) a diferentes distâncias do sistema. Foram analisadas sensibilidade e resolução do sistema tanto para o eixo da linha de base do sensor, como para eixos tangenciais ao sistema.

Teste de Sensibilidade e Resolução Axial

Foi posicionado um trilho de madeira, com um comprimido contendo material magnético (Ferrita) livre para ser movimentado por ele, em frente ao sensor, como mostra a figura 3. Com d sendo a distância entre o sensor e a posição inicial do material magnético, p o passo em que foi variada a posição do comprimido e D a distância total percorrida durante o teste.

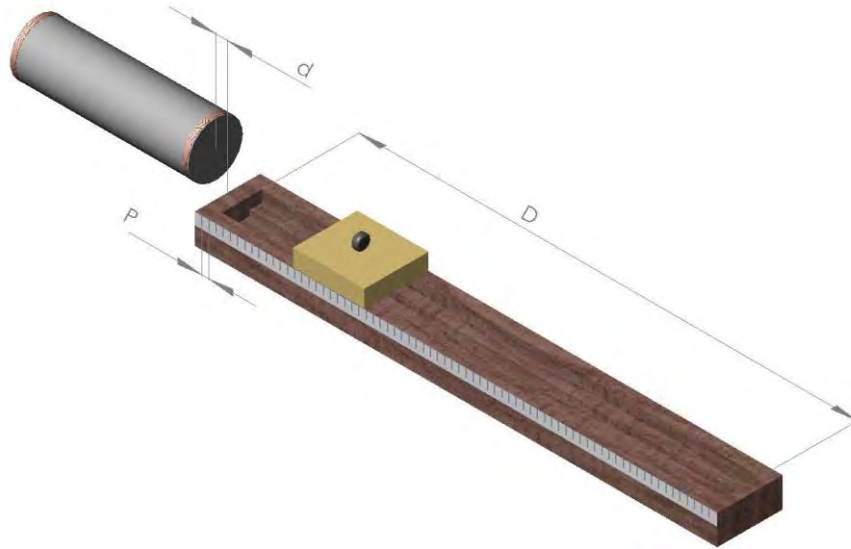


Figura 3: Esquemática do teste de caracterização axial

Foi adquirido o valor de tensão medido pelo sensor a cada passo (p) do sistema. Todos os parâmetros foram mantidos constantes durante os testes, com o passo sendo de 0,5 cm, a distância total percorrida (D) 10 cm e a distância inicial (d) entre o sensor e o marcador magnético sendo de 0,5 cm.

O teste foi repetido três vezes para cada sensor a fim de que se pudessem obter valores mais concretos referentes ao alcance de cada sistema.

Teste de Sensibilidade e Resolução Tangencial

Os testes de sensibilidade e resolução tangencial foram conduzidos basicamente da mesma forma. O trilho de madeira, contendo o marcador magnético (comprimido), foi posicionado a uma distância d a frente do sensor, desta vez em um eixo perpendicular ao do sistema, como mostra a figura 4.

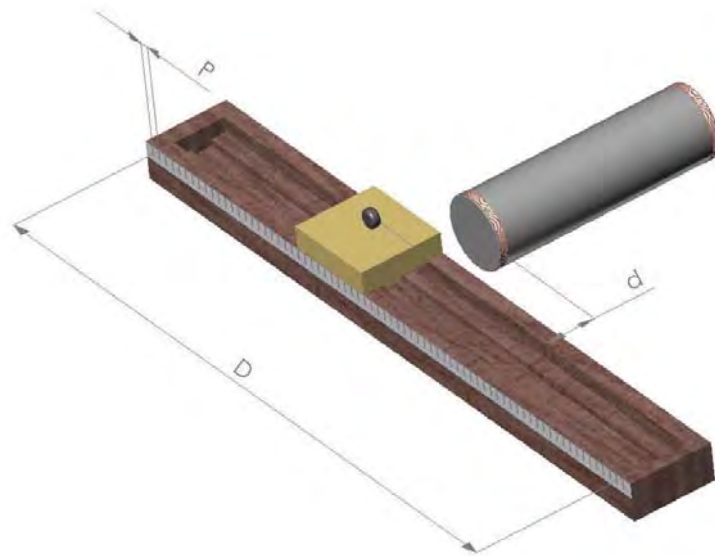


Figura 4: Esquemática do teste de caracterização tangencial

O procedimento adotado foi semelhante ao do teste anterior. A posição do marcador em relação ao sensor foi variada a um passo p por uma distância total D . O valor do passo em que foi variada a posição do marcador, bem como a distância total percorrida durante cada teste, foram mantidos constantes e idênticos ao experimento anterior, em 0,5 cm e 10 cm, respectivamente.

Tomando a frente do sensor como ponto de origem, a distância percorrida pelo marcador se deu do ponto -5 cm ao ponto $+5$ cm. O teste foi repetido três vezes para cada distância entre o trilho e o sensor (d). O segundo passo deste teste foi variar a distância “ d ” do experimento e repetir os passos anteriores. Desta forma seria possível comparar o comportamento do sensor, em relação à sensibilidade e resolução tangencial para diferentes distâncias. Foram utilizados os valores de 1, 3 e 5 cm para a distância d , do sensor ao marcador.

Ambos os teste foram realizados com o novo sensor, construído durante a execução deste projeto, e depois com um sensor já utilizado nas medidas em animais de maior porte, como porcos e cachorros. O objetivo destes testes, além de caracterizar o novo sistema construído, foi comparar a viabilidade do sensor frente a um sistema com parâmetros já otimizados, utilizado em rotinas de pesquisa.

Descrição dos testes para sólidos e líquidos

Utilizando o novo sistema, já caracterizado e otimizado, foram realizados os testes referentes aos parâmetros de trânsitos a serem analisados. Os testes, tanto para alimentos sólidos como líquidos, foram conduzidos de forma semelhante. Após os animais ingerirem uma determinada quantidade de alimento marcado com material magnético, foi observado o desenvolvimento do processo de trânsito deste traçador pelo seu trato gastrointestinal. Desta forma foi possível analisar, simultaneamente, esvaziamento gástrico e trânsito gastrointestinal dos ratos.

Testes com alimentos sólidos

Para garantir que não houvesse qualquer tipo de interferência nas medidas, foi retirada a ração de cada animal 24 horas antes de cada experimento, sendo permitido que ele tivesse apenas livre acesso à água.

No início do experimento, o animal era alimentado com cerca de 3g de ração marcada com 1g de Ferrita e 15 minutos depois, era retirada a ração e os pontos de interesse demarcados no rato. Tais pontos correspondem às regiões do estômago e ceco do animal, onde seriam medidos os valores de tensão referentes à quantidade de material magnético e conseqüentemente, à quantidade de alimento presente na determinada região. Desta forma, seria possível analisar, em tempo real, a distribuição temporal do alimento pelo trato gastrointestinal.

Testes com alimentos líquidos

A verificação do trânsito e do tempo de esvaziamento de alimentos líquidos se deu de forma semelhante. Após manter o rato em jejum por um período de 24 horas, foi aplicado por gavagem no animal, uma solução contendo 1 ml (50mg) de ferrofluido nanoestruturado diluído em 1,5 ml de água destilada. De forma semelhante aos testes com alimentos sólidos, 5 minutos após a gavagem foi realizado um mapeamento das mesmas regiões de interesse no animal e através do monitoramento destes pontos, foi obtida a distribuição do alimento marcado pelo trato do animal e a variação temporal deste parâmetro, ou seja, o perfil de distribuição temporal do alimento pelo TGI. Assim, foi possível determinar com exatidão o tempo de esvaziamento gástrico e também o trânsito gastrointestinal.

A figura 5 ilustra os pontos de interesse onde foi feita a aquisição dos valores de tensão em cada animal. Os testes foram realizados em seis ratos machos, de peso e idade apro-

ximadamente iguais. É importante ressaltar que estes pontos foram os mesmos para todos os animais, em ambos os testes, sólidos e líquidos. Assim, foi possível relacionar os perfis de esvaziamento gástrico e trânsito gastrointestinal, para alimentos sólidos e líquidos, de cada animal.

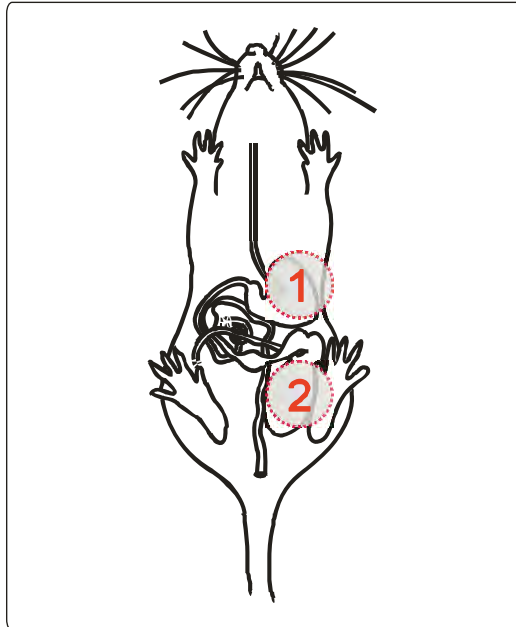


Figura 5: Ilustração com as regiões de interesse do animal.

No início do experimento, aproximando o sensor da superfície abdominal do rato, foi obtido um dado referente ao valor de tensão basal, dependente do acoplamento entre o sensor e o animal. Este valor seria utilizado posteriormente na análise dos dados obtidos com o intuito de distinguir dentre os resultados encontrados, valores de tensão resultantes apenas da concentração e posição do material magnético na região.

Para a obtenção dos parâmetros de trânsito, aproximou-se o sensor de cada uma das regiões de interesse demarcadas no animal. Estas regiões foram monitoradas, em intervalos de 15 minutos, até que se constatasse a total saída do material magnético do estômago e sua chegada ao ceco do animal. A variação das distribuições de material magnético medidas em cada ponto corresponde ao trânsito do alimento pelo TGI do animal. Vale lembrar que os dados obtidos pelo sensor são valores de tensão, referentes ao desbalanceamento do campo magnético criado entre as bobinas de excitação e detecção do sensor. Estes dados foram relacionados entre si e assim foi possível obter uma curva referente à concentração de material magnético em cada uma das regiões demarcadas. Cada um dos seis animais foi submetido ao experimento para alimentos sólidos e líquidos.

Em ambiente MatLab®, foi construída uma rotina (descrita no Anexo a) para relacionar os valores de tensão obtidos durante os experimentos em função do tempo para os pontos 1 e 2 em cada animal e, a partir do método estatístico descrito por (PODCZECK, NEWTON e YUEN 1995), determinar o tempo médio de permanência do alimento no estômago (MGRT), referente ao esvaziamento gástrico, e também o tempo médio de chegada do alimento no ceco (MCAT), que corresponde ao trânsito gastrintestinal, além dos valores de VGRT e VCAT, correspondentes às suas respectivas variâncias.

IV. Resultados e discussão

Caracterização do Sensor

Com a finalidade de se analisar as propriedades do trato gastrointestinal de pequenos animais, foi idealizado um sensor de área de detecção menor e maior número de voltas na bobina detectora em relação à de excitação. O objetivo desta configuração foi fornecer melhor resolução espacial e sensibilidade suficiente para que fossem medidos com precisão e alta relação sinal/ruído todos os parâmetros de trânsito.

Este novo sensor foi testado e comparado com outro sistema, já utilizado em outras rotinas, em termos de resolução e alcance, axial e tangencial. Para estes testes foram mantidos constantes todos os outros parâmetros que não intrínsecos a cada sensor, como tensão aplicada às bobinas e frequência de excitação. A corrente elétrica em cada bobina, como mostrado na tabela 1, variou devido às diferentes impedâncias de cada sistema.

Sensibilidade Axial

A figura 6 ilustra os resultados obtidos para os dois sensores frente à variação do sinal com a distância axial.

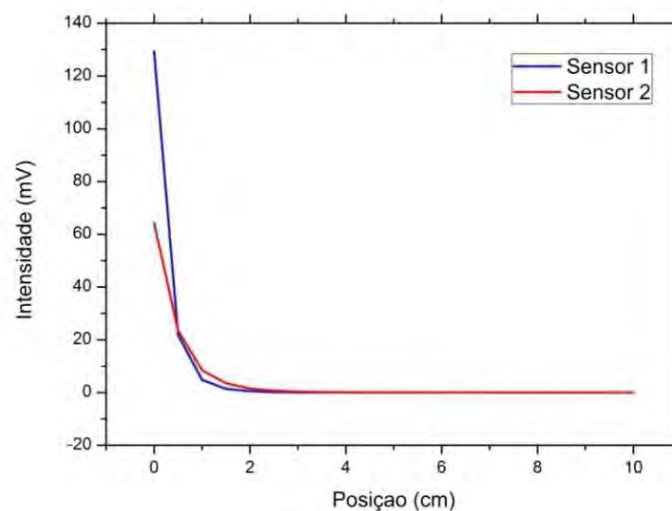


Figura 6: Gráfico da variação da Intensidade em função da posição para a caracterização axial.

Neste gráfico é possível observar que, com o material magnético próximo ao sensor, o sinal observado no sensor 1 é muito maior que em 2. No entanto, conforme o marcador é afastado do sensor, o decaimento do sinal observado no sensor 1 é mais acelerado. O perfil de decaimento do sinal é melhor ilustrado na figura 7, onde se expressa os dados anteriores em escala *dilog*.

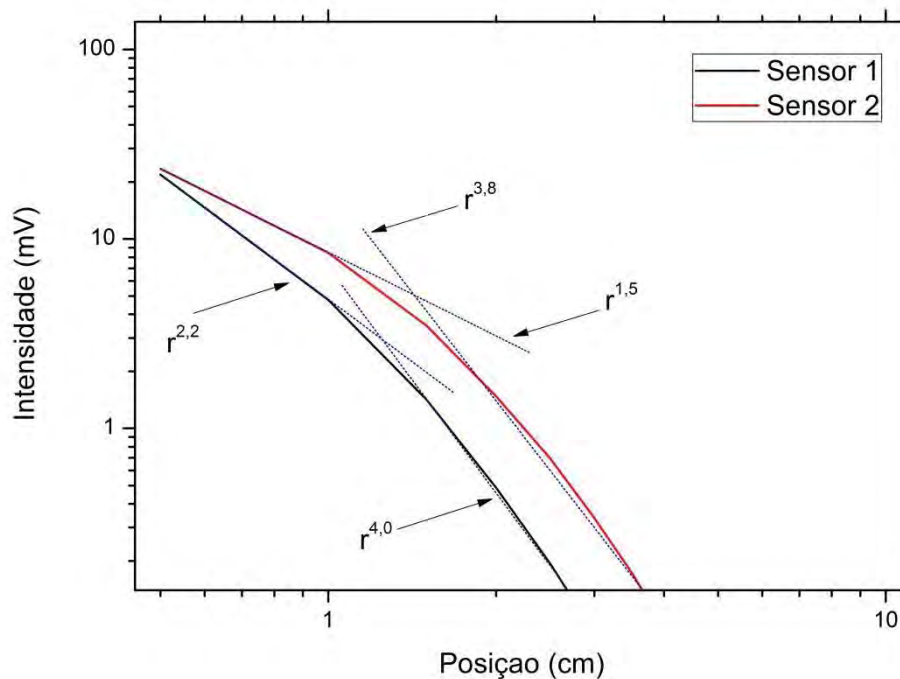


Figura 7: Perfil de decaimento da intensidade do sinal medido em função da posição em escala *dilog*.

Neste gráfico, observa-se que o perfil de decaimento possuem dois comportamentos distintos. Desta forma foi possível obter as inclinações de cada faixa e assim comparar de maneira mais coerente os dois perfis de sinal registrados. Considerando os expoentes dos coeficientes de inclinação das retas, é possível perceber através do gráfico, que o sensor 1 apresenta um decaimento mais acentuado em relação ao outro sistema.

O comportamento destas curvas pode ser explicado pelas especificações na construção de cada sensor. O sistema 1, por ter menor área de detecção e bobinas de excitação com menor resistência ôhmica, possui maior amplitude de corrente elétrica para um mesmo valor de tensão aplicado, como pode ser observado na tabela 1. Este parâmetro, como indica a equação 12, influencia diretamente na amplitude do campo magnético induzido, enquanto que a menor área determina a maior dependência com a distância.

Outro fator que deve ser considerado é a área de detecção de cada sistema. Como o sensor 1 foi construído com área menor e conseqüentemente, possui bobinas de menor raio, a amplitude do campo magnético gerado pelo sistema será maior que no sistema 2, considerando apenas o centro de cada detector.

No entanto, é possível notar que, a partir de certa distância, a amplitude do sinal medido pelo sensor 2 passa a ser maior que o medido em 1. Este comportamento também pode ser explicado pela escolha dos fatores geométricos de cada sensor. O sensor com maior área deverá ter um campo de menor amplitude no centro de sua bobina, já que suas linhas de campo estarão mais dispersas. Porém, este mesmo fator faz com que o sensor tenha um alcance maior, pois o fato destas linhas de campo se propagarem por uma distância maior faz com que elas possam ser influenciadas por materiais magnéticos mais distantes do sensor.

Como o objetivo do sensor é analisar a variação de concentração e posição de materiais magnéticos em ratos, ou seja, a pequenas distâncias do sensor, o perfil de sensibilidade do sensor 1 é ideal para este tipo de aplicação. Sua grande oscilação de amplitude de sinal, observada para pequenas variações de distância do material magnético, torna mais perceptível qualquer ligeira variação de posição ou concentração do traçador dentro do trato do animal. Desta forma, tem-se um sensor mais sensível para pequenas distâncias, porém com maior variação a modificações axiais.

Caracterização Tangencial

Para a caracterização tangencial do novo sensor, como ilustra a figura 4, variou-se lateralmente a posição do comprimido em relação ao sensor, desde o ponto -5 até o ponto + 5 cm, a um passo de 0,5 cm. As figuras 8, 9 e 10 mostram, respectivamente, o gráfico da variação de intensidade do sinal em função da posição do marcador magnético para uma distância d , entre o sensor e o marcador de 1, 3 e 5 cm.

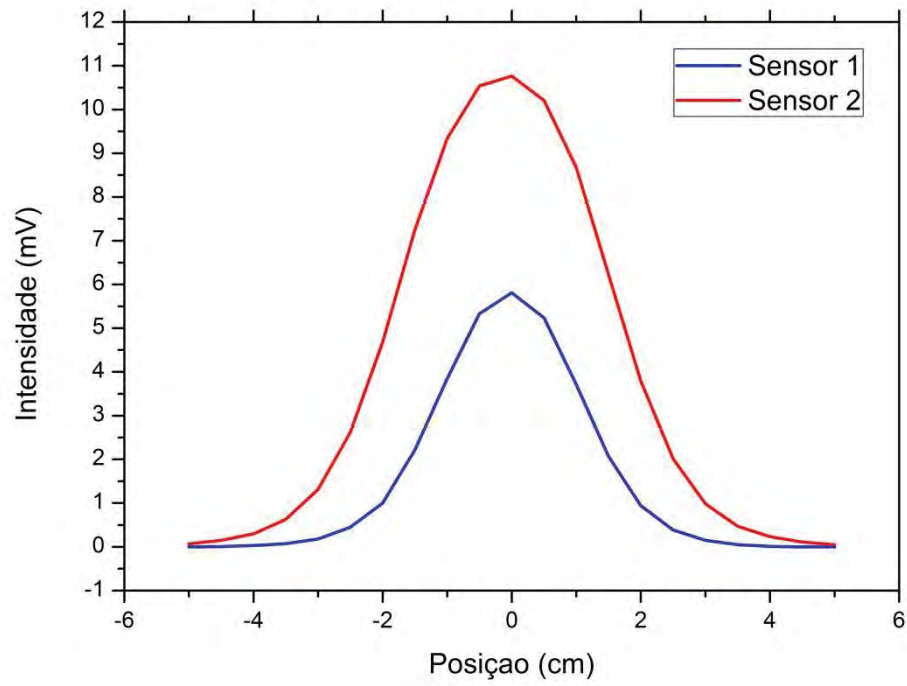


Figura 8: Gráfico da variação da Intensidade em função da posição para a caracterização tangencial a 1 cm.

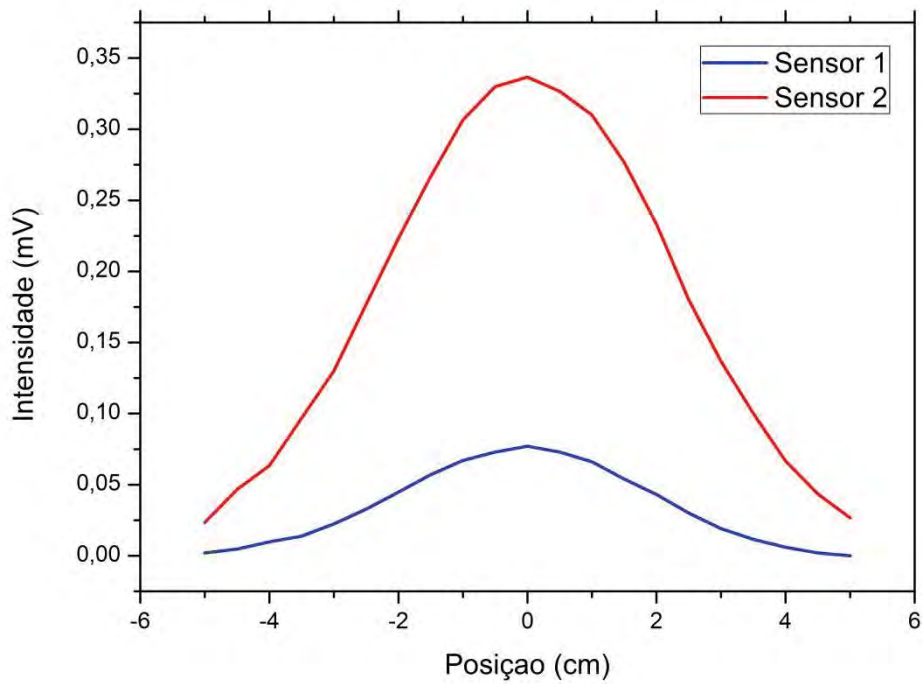


Figura 9: Gráfico da variação da Intensidade em função da posição para a caracterização tangencial a 3 cm.

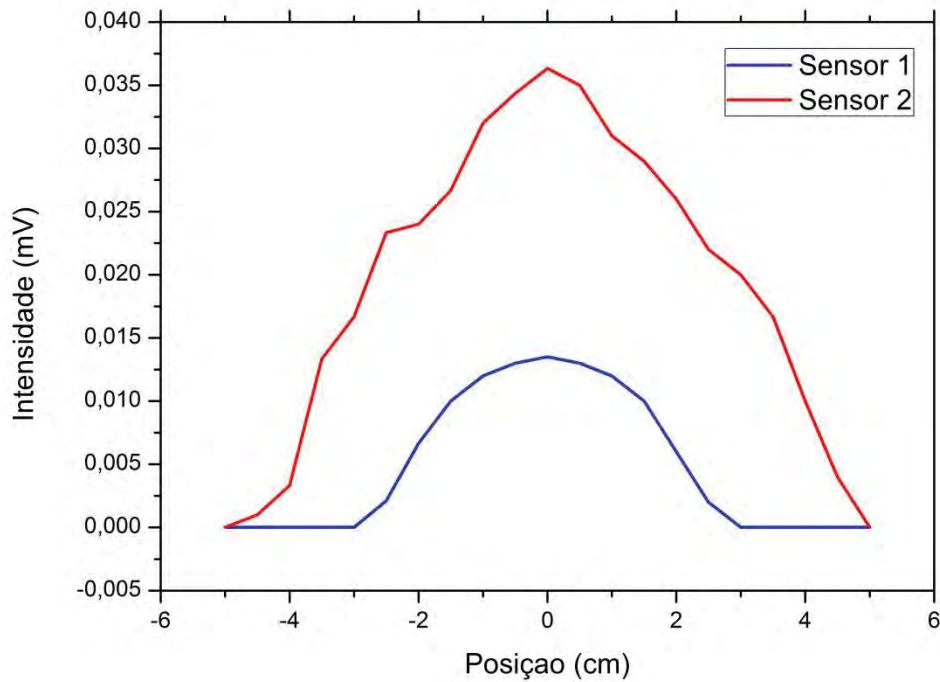


Figura 10: Gráfico da variação da Intensidade em função da posição para a caracterização tangencial a 5 cm.

De forma análoga aos testes de sensibilidade axial, é possível perceber a influência do perfil de decaimento da sensibilidade de cada sistema quando a distância (d) entre o sensor e o trilho é variada. Já a 1 cm de distância do material magnético, o sensor 2 demonstra maior amplitude de sinal registrado e esse ganho de sensibilidade em relação ao sensor 1 se mantém conforme a distância d é aumentada.

Porém, o objetivo da construção deste sensor, específico para medidas em pequenos animais, foi obter uma instrumentação com configuração dedicada, que fornecesse a melhor resolução espacial possível e sensibilidade considerável para pequenas distâncias. O fator resolução é inversamente dependente da largura, a meia altura, de cada pico registrado pelo sensor em resposta ao material magnético. Então, analisando a figura 11, referente à variação da espessura de cada pico obtido nas figuras 8, 9 e 10, verificou-se que este parâmetro se mantém sempre menor para as curvas do sistema 1 em relação ao 2.

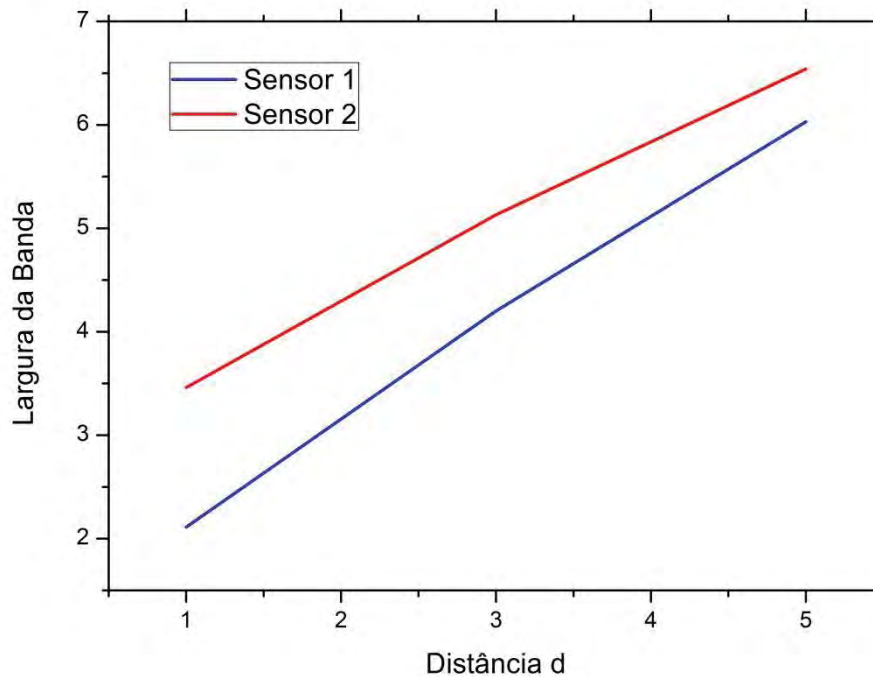


Figura 11: Gráfico da variação da espessura de cada pico obtido em função da distância (d).

Desta forma fica evidente que a resolução espacial, intrínseca ao novo sensor elaborado é maior que a do sensor 2, apesar de este possuir maior sensibilidade como foi evidenciado nas figuras 8, 9 e 10. É necessário lembrar ainda que, apesar do sistema 2 possuir maior sensibilidade para maiores distâncias, o novo sistema apresentou melhor resposta próximo ao material magnético, além de alta variação de sinal para pequenas oscilações de posição do marcador magnético. Isto o torna mais focalizado e conseqüentemente com maior poder de resolução lateral. Estes fatores são essenciais na obtenção dos parâmetros de trânsito necessários para o estudo proposto, já que o objetivo do trabalho foi analisar propriedades do TGI de ratos, onde se espera encontrar ligeiras variações de concentração frente à posição do material magnético.

Considerando então que o sistema foi construído e otimizado para obter parâmetros de trânsito a fim de analisar propriedades do TGI de pequenos animais, este novo sensor atende perfeitamente às necessidades da nova instrumentação.

Avaliação dos Parâmetros de Trânsito

Após a construção e otimização do novo sistema de aquisição, foram realizados os testes referentes à determinação de parâmetros do trato gastrointestinal de ratos. Foram utilizados 6 ratos (Wistar, machos), os quais foram todos submetidos a ambos os experimentos, de determinação do perfil de esvaziamento gástrico e trânsito gastrointestinal de alimentos sólidos e líquidos.

Trânsito de Alimentos Sólidos

Após jejum de 24 horas, os ratos foram alimentados com um *pellet* de aproximadamente 3 g de ração marcada com 1 g de Ferrita. 15 minutos depois foi retirado o alimento do rato e após 5 minutos, iniciou-se o mapeamento das regiões de interesse em cada animal (mostrado na figura 5) a um intervalo constante de 15 minutos entre cada medida. Para cada animal foi montado um gráfico da variação da intensidade de sinal medido em cada uma das regiões em função do tempo. As figuras 12 e 13 são exemplos da curva formada para o esvaziamento gástrico de alimentos sólidos e trânsito gastrointestinal, respectivamente, para o animal 3.

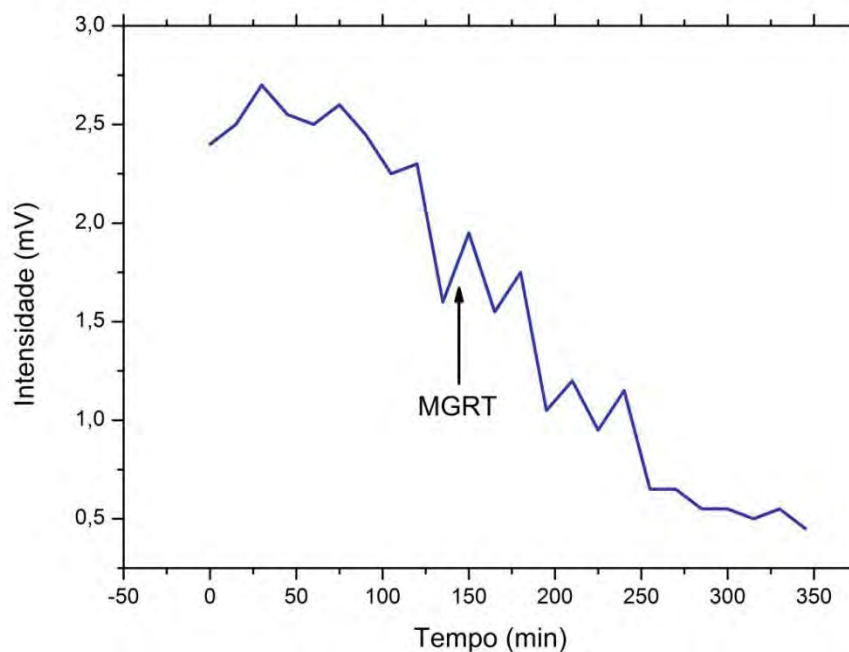


Figura 12: Gráfico referente à variação da Intensidade de sinal medida em função do tempo para esvaziamento gástrico de sólidos.

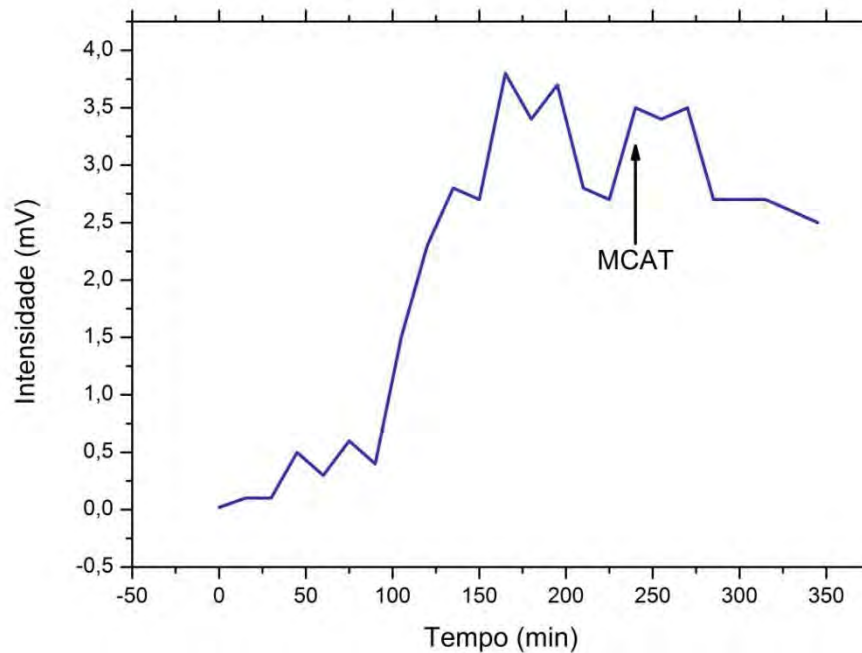


Figura 13: Gráfico referente à variação da Intensidade de sinal medida em função do tempo para trânsito gastrointestinal de sólidos.

Como é possível observar nos gráficos, apesar dessas distribuições temporais parecerem bastante coerentes, é consideravelmente complicado determinar com precisão o exato momento de esvaziamento gástrico ou de chegada do alimento no ceco do animal e é ainda mais complexo aproximar as curvas obtidas de um modelo de função conhecido. Por estas razões se justifica a utilização de um método estatístico. Os valores de MGRT e MCAT são valores médios que levam em consideração a relação entre a intensidade de sinal medida a cada instante, o instante em si em que a medida foi realizada e ainda a área sob a curva formada.

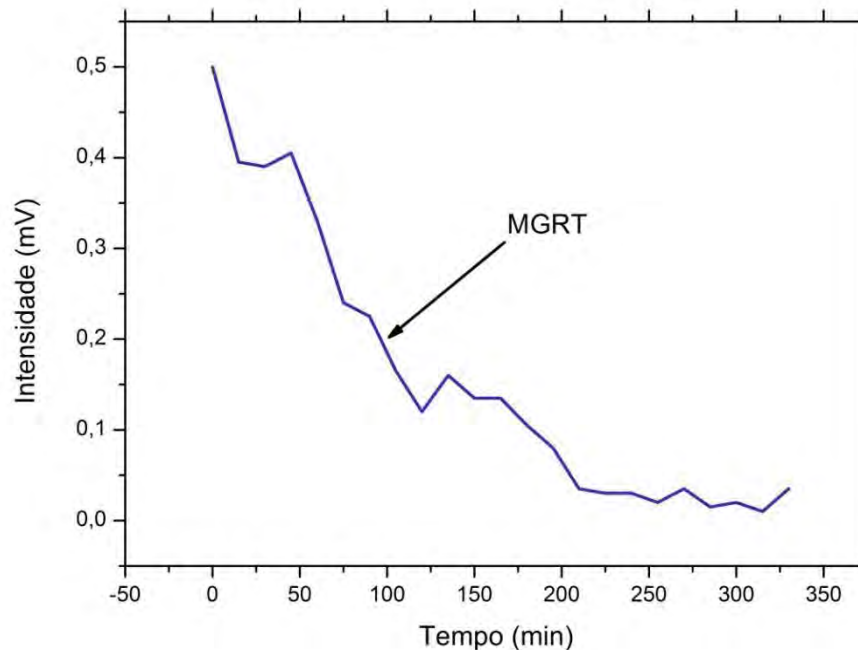
A tabela 2 distingue, para cada animal analisado, os valores referentes a área sob a curva formada para o esvaziamento gástrico (ASC1), o tempo médio de permanência do alimento no estômago (MGRT), a variância deste fator (VGRT), a área sob a curva formada durante o processo de chegada do alimento no ceco (ASC2), o tempo médio de chegada do alimento no ceco (MCAT) e sua respectiva variância (VCAT).

Tabela 2: Dados referentes ao esvaziamento gástrico e trânsito gastrointestinal de alimentos sólidos para cada rato analisado.

| Rato | ASC1 | MGRT | VGRT | ASC | MCAT | VCAT |
|--------------|---------------|---------------|-----------------|--------------|---------------|-------------|
| 1 | 404,32 | 118,02 | 7,46E+03 | 904,8 | 263,28 | 7,60E+03 |
| 2 | 861,75 | 124,54 | 7,77E+03 | 1191 | 181,00 | 6,30E+03 |
| 3 | 463,13 | 110,51 | 6,39E+03 | 489,0 | 172,66 | 8,05E+03 |
| 4 | 636,00 | 147,06 | 1,07E+04 | 1103 | 243,32 | 1,00E+04 |
| 5 | 1173,4 | 202,73 | 1,75E+04 | 1261 | 333,56 | 1,69E+04 |
| 6 | 292,23 | 129,42 | 7,34E+03 | 564,0 | 228,04 | 8,99E+03 |
| Média | 638,47 | 138,71 | 9526,667 | 918,9 | 236,97 | 9640 |

Trânsito de Alimentos Líquidos

Para a determinação dos parâmetros de trânsito de alimentos líquidos, o experimento realizado foi conduzido de forma semelhante ao de sólido, realizado sempre uma semana após a sessão de medida com alimento sólido. Após jejum de 24 horas, foi realizada a gavagem nos animais e 5 minutos depois, foi iniciado o mapeamento dos pontos pré-determinados em cada rato, a intervalos constantes de 15 minutos. As figuras 14 e 15 ilustram as curvas referentes ao esvaziamento gástrico e ao trânsito gastrointestinal, respectivamente, para o animal 3.

**Figura 14:** Gráfico referente à variação da Intensidade de sinal medida em função do tempo para esvaziamento gástrico de líquidos.

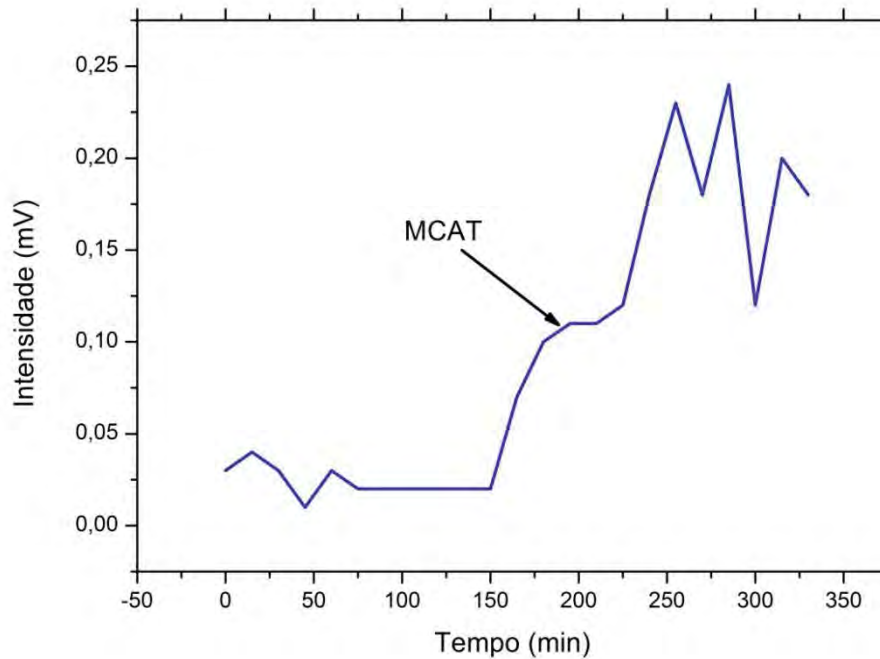


Figura 15: Gráfico referente à variação da Intensidade de sinal medida em função do tempo para trânsito gastrointestinal de líquidos.

Da mesma forma que no experimento para alimentos sólidos, foi construída uma tabela com os valores correspondentes para os alimentos líquidos. A tabela 3 demonstra a variação dos valores para cada animal e suas médias correspondentes.

Tabela 3: Dados referentes ao esvaziamento gástrico e trânsito gastrointestinal de alimentos líquidos para cada rato analisado.

| Rato | AEC | MGRT | VGRT | ASC | MCAT | VCAT |
|--------------|-------|-------|----------|-------|--------|----------|
| 1 | 61,54 | 102,3 | 8,61E+03 | 90,75 | 198,64 | 7,50E+03 |
| 2 | 84,64 | 101,6 | 5,05E+03 | 7,910 | 108,47 | 6,06E+03 |
| 3 | 50,21 | 83,44 | 4,93E+03 | 91,13 | 194,00 | 4,34E+03 |
| 4 | 33,68 | 93,34 | 6,93E+03 | 58,95 | 201,20 | 5,67E+03 |
| 5 | 20,63 | 92,24 | 7,02E+03 | 44,30 | 230,72 | 5,04E+03 |
| 6 | 23,70 | 111,8 | 6,70E+03 | 48,00 | 205,86 | 6,69E+03 |
| Média | 45,73 | 97,47 | 6540 | 56,84 | 189,82 | 5883,33 |

Os gráficos obtidos, ilustrados nas figuras 12, 13, 14 e 15 são resultantes da variação da intensidade de sinal em cada ponto de interesse em função do tempo. Essa variação está relacionada com a quantidade de material magnético presente em cada ponto, que por sua vez é diretamente proporcional com a quantidade de alimento na região.

Analisando as figuras 12 e 14, correspondentes ao esvaziamento gástrico para sólidos e líquidos, respectivamente, é possível perceber, como esperado, que o trânsito do alimento sólido leva um tempo maior em relação ao mesmo processo para os alimentos líquidos. Este fato também pode ser evidenciado observando os valores médios de MGRT mostrados nas tabelas 2 e 3. Quando comparados entre sólido e líquido, existe uma diferença significativa ($p=0.038$) entre os tempos médios de esvaziamento. O método ainda permite observar alguns padrões de esvaziamento que podem servir para diferenciar o trânsito de cada tipo de alimento. Pela análise do perfil da curva de esvaziamento, é possível perceber que o alimento sólido leva um tempo maior para deixar o estômago, proporcionando uma curva de perfil estável e depois decaimento. Por outro lado, para líquidos, o esvaziamento se dá em um perfil mais próximo do exponencial, isto é, ocorre um decaimento mais acentuado já no início do processo.

É possível ainda observar que com estas medidas simultâneas de esvaziamento e trânsito pode-se verificar que, concomitante ao esvaziamento gástrico, inicia-se o processo de chegada ao ceco. A obtenção dos valores de MCAT e MGRT pode proporcionar uma análise qualitativa e também inferir possíveis quantificações sobre o trânsito segmentar, isto é, intestinal. Portanto, apesar de não ser objetivo deste estudo, esta metodologia também pode proporcionar investigações sobre o trânsito de alimento especificamente no intestino delgado.

No entanto, como o esvaziamento gástrico para alimentos líquidos possui um tempo menor do que de sólido, o processo de chegada do alimento ao ceco não é concomitante ao esvaziamento, como ocorre para alimentos sólidos. Neste caso, normalmente a chegada ao ceco ocorre praticamente após o esvaziamento no estômago. Este perfil pode ser justificado pelo tempo que leva para o alimento deixar o estômago e percorrer as alças intestinais do animal. Ainda assim, é importante notar que o tempo médio de chegada do alimento no ceco (MCAT) para alimentos líquidos é consideravelmente menor que o mesmo coeficiente para alimentos sólidos ($p=0,044$).

A vantagem da utilização dos fatores MGRT e MCAT é que eles correspondem aos tempos médios de permanência no estômago e chegada no ceco, respectivamente. Estes valores são obtidos através da análise de toda a curva formada durante o experimento e também pela área sob esta curva, considerando assim as amplitudes de oscilação do processo. Normalmente, para esvaziamento, emprega-se o tempo médio ($T_{1/2}$), obtido após a intensidade do sinal decair pela metade. Porém, este procedimento é passível de várias críticas e está baseado em um modelo exponencial puro, o que não é realístico para a maioria dos processos de esvaziamento. Para a análise do tempo de chegada no ceco, cada metodologia emprega um

procedimento de quantificação, sendo extremamente variável e dependente do método e dos limites adotados (PODCZECK, NEWTON e YUEN 1995).

Outra vantagem do método proposto é que os testes para alimentos sólidos e líquidos podem ser realizados no mesmo rato, já que o procedimento não agride o animal, é possível que sejam realizados quantos experimentos forem necessários, o que facilita a comparação entre os parâmetros de trânsito para diferentes tipos de alimento, padrões de rações, efeitos de fármacos, etc.

V. Conclusão

Este estudo teve por objetivo propor um método de avaliação do esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de alimentos sólidos e líquidos em ratos. As principais vantagens desta técnica biomagnética são que o sistema é uma alternativa de baixo custo, que não necessita de um ambiente controlado para ser realizado, não é invasivo, não utiliza radiação ionizante apresenta alta versatilidade e fácil manuseio.

A BAC é um procedimento que registra informações do bolo alimentar pela aplicação de um campo magnético neste meio em associação com marcadores ou traçadores magnéticos. Apesar deste método já ter sido utilizado anteriormente para outras finalidades, inclusive trânsito e esvaziamento, neste estudo foi demonstrado que, com a construção de um novo sensor com características específicas em termos de resolução espacial e sensibilidade, é possível realizar medidas destes parâmetros em pequenos animais. O que demonstra que o sistema pode ser otimizado e seus parâmetros podem ser selecionados de acordo com a necessidade do experimento.

Para as análises de parâmetros de trânsito em pequenos animais, em que geralmente são realizadas medidas indiretas, que demandam alto custo, extremamente invasivas ou que dependem do sacrifício de um número considerável de animais para a formulação de um modelo temporal. A BAC oferece uma alternativa que fornece medidas diretas e em tempo real dos parâmetros e propriedades do trato. A técnica também é capaz de fornecer informações sobre o trânsito de alimentos sólidos ou líquidos e, por não agredir o animal, permite que essas medidas sejam realizadas no mesmo animal, quantas vezes forem necessárias, facilitando a relação entre os perfis de trânsito.

O sistema demonstrou ainda, sensibilidade e resolução suficientes para analisar um número maior de pontos do TGI que não apenas o estômago e o ceco do animal. Desta forma, ainda é possível utilizar a instrumentação na determinação de parâmetros de trânsito em outros pontos do trato ou obter uma relação entre todas essas regiões e desta maneira, obter uma distribuição temporal do alimento pelo TGI, fatos não explorados neste estudo.

Uma vez validada esta técnica, será possível analisar estes parâmetros em outros modelos, utilizando um sensor dedicado, de acordo com a especificação de cada sistema, bem como a análise destes padrões sob influência de estados patológicos, ou para outras formas de refeições teste.

VI. Bibliografia

- AMÉRICO, M. F. **Distribuição Intragástrica de uma Refeição com Pequeno Volume avaliada por Cintilografia e Biomagnetismo**. 2003. 88p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.
- AMÉRICO, M. F. et al. Validation of ACB in vitro and in vivo as a biomagnetic method for measuring stomach contraction. **Neurogastroenterol Motil**, v.22, 1340-e374, 2010.
- ANDREIS, U. et al. Gastric motility evaluated by electrogastrography and alternating current biosusceptometry in dogs. **Physiol. Meas.** v.29, 1023-1031, 2008.
- AZPIROZ, F.; MALAGELADA, J.R. Intestinal Control of Gastric Tone. **Am. J. Physiol.** v.249, G501-G507, 1985.
- BAFFA, O. et al. Analysis and development of a simple AC biosusceptometer for oro-caecal transit time measurements. **Med. Biol. Eng. Comput.** v.33, 353-7, 1995.
- BAGGIO, C.H. et al. Gastroprotective effects of a crude extract of *Baccharis illinita* DC in rats. **Pharmacol Res.** v.47, 95-8, 2003.
- BASTUSCHECK, C. M.; S. J. WILLIAMSON. Technique for measuring the ac susceptibility of portions of the human body or other large objects. **J. Appl. Phys.** v.114, 3896-3906, maio 1985.
- CAMILLEERI, M.; M.J. FORD. Review Article: Colonic Sensorimotor Physiology in Health, and Its Interaction in Constipation and Diarrhoeal Disorders. **Aliment. Pharmacol. Ther.** v.12, 287-302, 1998.
- CAMILLERI, M. et al. Measurement of Gastrointestinal Motility in the GI Laboratory. **Gastroenterology.** v.115, 747-762, 1998.

- CORÁ, L. A. et al. Gastrointestinal transit and disintegration of enteric coated magnetic tablets assessed by ac biosusceptometry. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** v.27, 1-8, 2006.
- GARRICK, T. Intracerebroventricular pressure inhibits gastric antral and duodenal contractility but not acid secretion in conscious rabbits. **Gastroenterology.** v.95, 26-31, 1988.
- KACKER A, V.; MEHTA B, V. S.; GUPTA, Y. K. Acute intracranial hypertension-induced inhibition of gastric emptying: evaluation in conscious rats. **Eur J Pharmacol.** v.369, 65 - 72, 1999.
- MAES, B. D. Gastric emptying flow curves separated from carbon-labeled octanoic acid breath test results. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.** v.275, G169-G175, 1998.
- MIRANDA, J. R. A. et al. An AC susceptometer to study gastric emptying. **Med. Phys.** v.19, 445-448, 1992.
- MIRANDA, J. R. A. et al. A novel biomagnetic method to study gastric antral contractions. **Phys. Med. Biol.** v.42, 1791-1799, 1997.
- OLIVEIRA, R. B. et al. Evaluation of a biomagnetic technique for measurement of oro-caecal transit time. **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.** v.8, 491-495, 1996.
- PODCZECK, F.; NEWTON, J. M.; YUEN, K. The Description of the Gastrointestinal Transit of Pellets Assessed by Gamma Scintigraphy Using Statistical Moments. **Pharm. Res.** v.12, 376-379, 1995.
- MORAES, R. et al. Measurement of gastric contraction activity in dogs by means of AC biosusceptometry. **Physiol. Meas.** v.24, 337-345, 2003.
- REITZ, J. R.; MILFORD, F. J. e CHRISTY, R. W. **Fundamentos da Teoria Eletromagnética.** 3ªed. Rio de Janeiro: Campus, 1982.
- SZARKA, L. A.; CAMILLERI, M. Methods for measurement of gastric motility. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.** v.296, G461–G475, 2009.

VII. Anexos

Anexo a

Rotina desenvolvida para calcular valores de MGRT, VGRT, MCAT e VCAT em cada experimento realizado.