UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

UILIAN DE ANDREIS

ATIVIDADE ELETROMOTORA GÁSTRICA MODULADA POR ERITROMICINA E PROPRANOLOL EM CÃES AVALIADA POR BAC E EGG.

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como exigência parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração: Farmacologia).

Orientador: Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda

BOTUCATU - SP
2007

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

Andreis, Uilian de.
Atividade eletromotora gástrica modulada por eritromicina e propranolol em cães avaliada por BAC e EGG / Uilian de Andreis – Botucatu : [s.n.], 2007.

Dissertação (mestrado) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2007
Orientador: Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda
Assunto CAPES: 21000000

1. Gastroenterologia. 2. Sistema gastrointestinal – Motilidade.. 3. Biosusceptometria de Corrente Alternada. 4. Eletrogastrografia*.

CDD 615.1

Palavras chave: Biosusceptometria de Corrente Alternada; Eletrogastrografia; Eritromicina; Esvaziamento gástrico; Motilidade gástrica; Propranolol.

A meus pais Marli e Augusto.

“Quem sabe que o tempo está fugindo descobre, súbitamente,
a beleza única do momento que nunca mais será...”
(Rubem Alvez, “Tempus Fugit”)

Agradecimentos pessoais

Agradeço a Deus, sempre e por tudo.

"Toda vez que não viste as tuas pegadas na areia, foi porque te carreguei no colo."

A meus pais pelo carinho de todos os dias, por seu apoio, sua força espiritual, pelo conforto e a certeza de sempre ter o seu amor.

"A fé de vocês em mim me fez ter mais fé em mim mesmo."

A meus Irmãos Sílvia, Fernando, Luciano e seus conjuges, vocês são minha maior herança, o grande presente que meus pais me deram. A meus Sobrinhos Diego, Tiago, Lucas, Natália, Guilherme e Felipe pela alegria, graça e tanto carinho.

A grandeza não consiste em receber honras, mas em merecê-las.

(Aristóteles, 360 a.c.)

A minha tão querida Marina, por todos os nossos momentos, pelo aprendizado dia após dia, pelo imenso e confortável amor que nos une.

"E se você dormisse? E se você sonhasse? E se, em seu sonho, você fosse ao Paraíso e lá colhesse uma flor bela e estranha? E se, ao despertar, você tivesse a flor entre as mãos? Ah, e então?"

(O mundo de Sofia)

Agradecimentos institucionais

A meu Orientador, Prof. Adjunto José Ricardo de Arruda Miranda, que me incentivou e conduziu no caminho do conhecimento científico e formação acadêmica, pelo respeito profissional e por sua inestimável amizade.

Com atenção e carinho especiais, agradeço as minhas amigas e grandes colaboradoras desse trabalho Madileine Francely Américo e Luciana Aparecida Corá, que me acompanharam em todos os momentos e desde o início do trabalho se esforçaram e contribuíram para meu aprendizado.

A meus Amigos de Laboratório: Murilo Stelzer, Fabiano Carlos Paixão, Paulo Roberto Fonseca, Giovana Evangelista, Marcelo Agostinho e Rogério Moraes, por terem me auxiliado no desenvolvimento desse trabalho, pelos momentos de descontração e por proporcionar um ambiente de trabalho amigável e acolhedor.

À FAPESP pelo apoio à pesquisa e concessão de minha Bolsa de Mestrado, processo 2004/13010-5.

Resumo

A motilidade e o esvaziamento gástrico devem ser analisados tanto em diferentes condições patológicas como para compreender o efeito que determinadas drogas exercem nestes parâmetros. As técnicas convencionais apresentam alguns inconvenientes exigindo o desenvolvimento de novas metodologias que não envolvam radiação ionizante, apresentem baixo custo e não sejam invasivas. A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) preenche todos esses requisitos e tem se mostrado versátil no estudo da atividade motora do trato gastrintestinal (TGI). Já a eletrogastrografia (EGG), apesar de ser uma técnica relativamente simples, ainda tem um papel incerto na prática clínica sendo, portanto, imprescindível sua comparação com outros métodos. Por outro lado, drogas como Eritromicina e Propanolol, que são freqüentemente utilizadas, apresentam efeitos secundários relevantes sobre o TGI, apesar de pouco estudados. O objetivo desse estudo foi avaliar o tempo de esvaziamento gástrico sob intervenção de eritromicina (EM) e caracterizar a atividade de contração gástrica (ACG) sob intervenção de EM, propanolol e isoproterenol, empregando simultaneamente BAC e EGG. O estudo foi realizado em 12 cães fêmeas (8 a 10 kg), em jejum de 24h, que ingeriram uma refeição teste constituída de carne moída, ração triturada e ferrita. O esvaziamento gástrico foi avaliado sem anestésico e empregando um único sensor de BAC, enquanto os registros da ACG incluíram indução anestésica e utilizaram

BAC multi-sensores. Cada cão foi submetido a um experimento de controle e, após três dias, o mesmo procedimento era repetido com a administração das drogas citadas. Os dados foram processados em ambiente MatLab (MathWorks Inc.) e Origin Lab (Microcal), e a análise estatística empregou o teste t-Student. Observou-se que a EM e o propranolol provocaram um aumento na amplitude da ACG e na atividade elétrica gástrica (AEG), com simultânea diminuição na freqüência de contração. Os resultados mostraram também, que os efeitos da EM foram mais pronunciados que os do propranolol. A EM também diminuiu o tempo de esvaziamento gástrico e o tempo de trânsito orocecal. Através da comparação dos resultados da ACG e esvaziamento gástrico, pode-se inferir que essa aceleração no esvaziamento está relacionada com o aumento da ACG. O aumento na intensidade das contrações reduziu o tempo de retenção gástrica da refeição ingerida. A BAC e o EGG foram eficazes na avaliação multifuncional da motilidade gástrica frente aos efeitos de fármacos em cães. Considerando os resultados obtidos, a BAC, particularmente, pode ser considerada uma ferramenta valiosa nas investigações sobre motilidade em geral, além de investigar os efeitos de outras drogas de interesse sobre o TGI.

Abstract

Contractile activity and the gastric emptying should be analyzed in different pathological conditions and to understand how certain drugs affect these parameters. The conventional techniques contain (have) some inconveniences demanding new approaches that not required for ionizing radiation, present a simple noninvasive and low-cost technology. AC Biosusceptometry (ACB) fulfills those requirements and demonstrate versatile to study motor activity of the gastrointestinal tract (GIT). Electrogastrography (EGG) is a relatively simple and noninvasive technique, but its real clinical role remains to be established and, therefore, it is indispensable the comparison with other methods. On the other hand, drugs frequently used in clinical practice like erythromycin and Propranolol presents an evidence of secondary effects on the GIT that has been little studied. The aim of this study was to evaluate the gastric emptying time under erythromycin (EM) intervention and to characterize the gastric activity contraction (GAC) under intervention of EM, propranolol and isoproterenol, using ACB and EGG simultaneously. After an overnight fast, 12 female dogs (8 to 10 kg) ingested a test meal consisting of bovine meat, dry dog food and ferrite. The gastric emptying was evaluated without anesthesia and using a single sensor ACB, while for recordings of GAC the dogs were anesthetized and multi-sensor ACB was employed. Each dog was submitted to baseline recording and, after three days, the same procedure was repeated after the administration of the above mentioned

drugs. The data were analyzed in MatLab (MathWorks Inc.) and Origin Lab (Microcal), and Student's *t* test was employed. It was observed that the EM and the propranolol provoked an increase in the ACG and in the gastric electric activity (AEG), with simultaneous decrease in the contraction frequency. The results also showed that the effects were more pronounced for EM when compared with propranolol. The EM it also reduced the gastric emptying time and the orocaecal transit time. A comparison of the results of GAC and gastric emptying suggest that the acceleration in the emptying is related with the increase of GAC. The increase in the contractions intensity reduced the gastric retention time of the ingested meal. ACB and EGG were effective tools for evaluation of several gastric motor parameters and those related to the drugs effects in dogs. In summary, ACB is a valuable tool that can be considered in general investigations on motility, besides studies of the effects of other drugs of interest on GIT.

Lista de ilustrações

Figura III.01: Demonstração do experimento realizado por Faraday.
Figura III.02: Demonstração do fluxo magnético através de uma superfície.
Figura III.03: Demonstração do campo magnético gerado por uma bobina sobre a outra.
Figura III.04: Susceptômetro AC em arranjo coaxial.
Figura III.05: Esquema de funcionamento de um único sensor magnético da BAC.
Figura III.06: Diagrama de bloco eletrônico do sistema de BAC.
Figura III.07: Sistema de Biosusceptometria AC multisensores.
Figura III.08: Plataforma de aquisição e amplificadores de EGG BIOPAC Systems, Inc.
Figura III.09: (A) Fórmula estrutural da EM; (B) Lactobionato de EM.
Figura III.10: Fórmula estrutural do propranolol.
Figura III.11: Fórmula estrutural do isoproterenol.
Figura IV.01: Esquema de posicionamento do mono-sensor BAC.
Figura IV.02: (A) Esquema de posicionamento dos eletrodos para EGG. (B) Posicionamento do multi-sensores BAC.
Figura V.01: Perfil do esvaziamento gástrico e TTOC no período de controle.
Figura V.02: Perfil do esvaziamento gástrico e TTOC sob efeito de EM.
Figura V.03: Quantificação das médias e desvio padrão para TEG e TTOC, controle e sob efeito de EM.
Figura V.04: Quantificação da redução do TEG e TTOC sob efeito da EM.
Figura V.05: Protocolo de estudo utilizando EM.
Figura V.06: Exemplo de sinal adquirido por BAC e EGG, sob efeito de EM.
Figura V.07: Ampliação do período B, referente aos sinais da figura V.06.
Figura V.08: Ampliação do período D, referente aos sinais da figura V.06.
Figura V.09: FFT referente aos sinais da figura V.06.
Figura V.10-A: RSA BAC referente aos sinais da figura V.06.
Figura V.10-B: RSA EGG referente aos sinais da figura V.06.
Figura V.11: Quantificação de amplitude (A) e de índice de motilidade (B) para BAC.
Figura V.12: Quantificação de amplitude (A) e de índice de motilidade (B) para EGG.
Figura V.13: Exemplo de sinal adquirido por BAC e EGG, sob efeito de EM.
Figura V.14: Ampliação do período B, referente aos sinais da figura V.12.
Figura V.15: Ampliação dos períodos C e D, referente aos sinais da figura V.13.
Figura V.16: FFT referente aos sinais da figura V.13.
Figura V.17: Quantificação de amplitude (A) e de índice de motilidade (B) para BAC para sinais da figura V.13.

Figura V.18: Quantificação de amplitude (A) e de índice de motilidade (B) para EGG para sinais da figura V.13.
Figura V.19: Quantificação media de amplitude por período para BAC.
Figura V.20: Quantificação media de amplitude por período para EGG.
Figura V.21: Quantificação media de índice de motilidade por período para BAC.
Figura V.22: Quantificação media de índice de motilidade por período para EGG.
Figura V.23: Quantificação media de freqüência por período para BAC.
Figura V.24: Quantificação media de freqüência por período para EGG.
Figura V.25: Protocolo de estudo utilizando Propanolol e Isoproterenol.
Figura V.26: Exemplo de sinal adquirido por BAC e EGG, sob efeito de propranolol.
Figura V.27: FFT referente aos sinais da figura V.26.
Figura V.28: RSA BAC referente aos sinais da figura V.26.
Figura V.29: RSA EGG referente aos sinais da figura V.26.
Figura V.30: Quantificação média de amplitude por período para BAC.
Figura V.31: Quantificação média de amplitude por período para EGG.
Figura V.32: Quantificação média de índice de motilidade por período para BAC.
Figura V.33: Quantificação média de índice de motilidade por período para EGG.
Figura V.34: Quantificação média de freqüência por período para BAC.
Figura V.35: Quantificação média de freqüência por período para EGG.
Figura V.36: ACG pelas técnicas de BAC, Pressão e EGG.
Figura V.37: Ampliação dos períodos F e G da figura V.36.
Figura V.38: Ampliação dos períodos B, C e D da figura V.36.
Figura V.39: Maior ampliação da figura V.36; períodos B e C.
Figura V.40: ACG pelas técnicas de BAC e EGG.
Figura V.41: ACG pelas técnicas de BAC e EGG.
Tabela V.I: Média e desvio padrão para TEG e TTOC fisiológico e sob efeito de EM.
Tabela V.II: Distribuição dos dados de amplitude, quantificada pela área sob a curva, sob efeito de EM.
Tabela V.III: Distribuição dos dados de índice de motilidade sob efeito de EM.
Tabela V.IV: Distribuição dos dados de freqüência sob efeito de EM.
Tabela V.V: Distribuição dos dados de amplitude, quantificada pela área sob a curva, sob efeito de propranolol.
Tabela V.VI: Distribuição dos dados de índice de motilidade sob efeito de propranolol.
Tabela V.VII: Distribuição dos dados de freqüência sob efeito de propranolol.

Lista de abreviaturas e siglas

ACG – Atividade de Contração Gástrica

AEG – Atividade Elétrica Gástrica

AUC – Area Under Curve (Área sob a Curva)

BAC – Biosusceptometria de Corrente Alternada

cpm – ciclos por minuto

ECA – Electric Control Activity (Atividade Elétrica de Controle)

EG – Esvaziamento Gástrico

EGG – Eletrogastrografia

EM – Eritromicina

EMG – Eletromiografia

Eq. – equação

ERA – Electric Response Activity (Atividade Elétrica de Resposta)

fem – Força Eletromotriz

FFT – Fast Fourier Transform (Transformada Rápida de Fourier)

Fig. – Figura

IM – Índice de Motilidade

LEM – Lactobionato de eritromicina

MCG – Magnetocardiografia

MEG – Magnetoencefalografia

MGG – Magnetogastrografia

MM – Marcadores Magnéticos

MMC – Migrating Motor Complex (Complexo Motor Migratório)

$MnFe_2O_4$ – Ferrita

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RSA – Running Spectral Analisys (Análise Espectral Temporal)

SNA – Sistema Nervoso Autônomo

SPECT – Single Photon Emission Computed Tomography

SQUID – Superconducting Quantum Interference Device

TEG – Tempo de Esvaziamento Gástrico

TGI – Trato Gastrintestinal

TM – Traçadores Magnéticos

TTOC – Tempo de Trânsito Oro-Cecal

US – Ultra-som

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

Sumário

Folha de rosto..... *i*
Dedicatória..... *ii*
Agradecimentos..... *iii*
Resumo..... *v*
Abstract..... *vii*
Lista de ilustrações..... *ix*
Lista de Abreviaturas e Siglas..... *xi*
Sumário..... *xii*

Capítulo I – Introdução..... **01**

Capítulo II – Objetivos..... **13**

Capítulo III – Bases Teóricas..... **14**
III.I – Biomagnetismo..... 14
III.II – Materiais magnéticos..... 17
III.III – Princípios físicos básicos..... 19
III.III.I – Lei de indução de Faraday..... 19
III.III.II – Bobinas de indução..... 22
III.IV – Susceptômetro AC..... 24
III.V – Biosusceptometria AC com multi-sensores..... 28
III.VI – Eletrogastrografia..... 30
III.VII – Agentes farmacológicos..... 33

Capítulo IV – Materiais e Métodos..... 35
IV.I – Esvaziamento gástrico..... 36
IV.II – Atividade de contração gástrica..... 37
IV.VI – Análise dos dados..... 39

Capítulo V – Resultados..... 42
V.I. Esvaziamento gástrico..... 42
V.II – Atividade de contração gástrica..... 44
V.II.I – Eritromicina..... 45
V.II.II – Propranolol..... 59
V.III – Outras Abordagens Preliminares..... 66

Capítulo VI – Discussão..... **70**

Capítulo VII – Conclusão..... **83**

Capítulo VIII – Referências..... **85**

Anexo..... **101**

I – INTRODUÇÃO

O trato gastrintestinal (TGI) é o provedor de nutrientes para todo o organismo e, durante seu trânsito no sentido aboral, a refeição ingerida sofre ação mecânica e enzimática resultando em aminoácidos, ácidos graxos e outras partículas pequenas o suficiente para serem propelidas e absorvidas (Gregersen, 2003).

Para que ocorra um bom funcionamento do sistema é necessária uma atividade motora coordenada e integrada ao longo do tubo digestivo (Rao & Schulze-Delrieu, 1993). No estômago, é essa atividade que promove e coordena a acomodação, armazenamento, trituração e esvaziamento, ajustado ao potencial de recebimento e absorção do intestino delgado (Quigley, 1996).

O estômago é um órgão muscular e de conspícua atividade física e enzimática. É a porção mais dilatada do TGI, sendo anatomicamente dividido em 5 regiões: cárdia, fundo, corpo, antro e piloro. Funcionalmente, no que concerne a atividade motora, pode ser dividido em proximal e distal.

Refeições sólidas ficam inicialmente retidas no estômago proximal (Camilleri, 2006) antes de serem redistribuídas para a região distal, onde serão trituradas por contrações intensas e propelidas em direção ao piloro. Após um período de retenção gástrica, essa refeição é reduzida a partículas com cerca de 2 mm que são esvaziadas do estômago geralmente de modo linear (Siegel et al., 1988).

Por outro lado, refeições líquidas são distribuídas por todo o estômago e rapidamente esvaziadas (Camilleri, 2006). Tradicionalmente, considera-se que líquidos não-nutritivos apresentam um perfil de esvaziamento gástrico exponencial; enquanto o aumento do valor nutritivo e calórico da refeição líquida culmina em um esvaziamento gástrico mais linear.

A avaliação do tempo de esvaziamento gástrico é um importante parâmetro sobre o funcionamento normal do TGI. Este é influenciado por fatores como o volume ingerido, a consistência e o teor de gordura da refeição (Camilleri, 2006).

As relações entre taxa de esvaziamento, tempo de trânsito do alimento e freqüência de contração em cada segmento do TGI são imprescindíveis no processo digestivo e seu funcionamento integrado é modulado por fatores miogênicos, químicos e neurais (Sarna, 1985; Rao & Schulze-Delrieu, 1993; Camilleri, 2006).

Esse controle integrado e regulado promove oscilações periódicas de potencial de membrana das células da musculatura lisa, conhecidas por ondas lentas ou Atividade Elétrica de Controle (ECA – *Electric Control Activity*). Durante um período, quando ocorre despolarização de um potencial de membrana, o músculo liso contrai. Sobreposta a ECA, e diretamente associada às contrações gástricas, ocorrem os *spikes* ou Atividade Elétrica de Resposta (ERA – *Electric Response Activity*) (Smout et al., 1980).

O tempo entre contrações individuais de locais adjacentes está relacionado com o espaço de tempo para ocorrência de despolarização da ECA, a qual regula, portanto, os padrões de espaço e tempo para ocorrência de contrações. Entretanto, o potencial de membrana não despolariza além do limiar de excitação em cada ECA, portanto não é essencialmente toda despolarização que apresenta contração. Para aumentar a amplitude de contração é necessário que ocorra a liberação de neurotransmissores nas redes neurais das camadas da musculatura lisa ou de substâncias endógenas apropriadas, provenientes de outros locais (Sarna, 1985; Quigley,1996).

Uma das características da atividade motora gastrintestinal é a presença de padrões diferentes de acordo com o estado prandial do indivíduo (Hasler, 1995).

Esses períodos têm características funcionais distintas de atividade. Considerando o estômago, no estado alimentado, o padrão de atividade motora é bastante regular e de freqüência bem caracterizada em torno de 3 cpm (ciclos por minuto) em humanos (Quigley, 2000) e de 4,3 cpm em cães (Moraes et al., 2003).

No jejum, a atividade está organizada em ciclos bem definidos e seqüenciais chamado de Complexo Motor Migratório (MMC – *Migrating Motor Complex*), caracterizado por 3 fases distintas (Sarna, 1985). A fase I é caracterizada por períodos de quiescência (pouca ou nenhuma contração). Na fase II, ocorrem contrações intermitentes e irregulares.

A fase III é caracterizada por contrações fortes, regulares e ininterruptas que atuam como ondas de limpeza (housekeeper waves) empurrando todo o conteúdo intraluminal (partículas indigeríveis e bactérias) em direção ao cólon (Quigley,1996).

Uma abordagem mais detalhada sobre o MMC, demonstrou que o início das contrações de fase III tem estreita relação com os níveis plasmáticos de motilina (Hasler, 1995). A motilina é um neurotransmissor endógeno produzido por células especializadas, as células motilínicas, presentes principalmente no epitélio duodenal de mamíferos e de aves. É um polipeptídio de 22 aminoácidos que é liberado na circulação sistêmica. Sua molécula foi identificada e completamente seqüenciada por Brown et al. (1973).

Os receptores da motilina presentes no TGI têm localização inespecífica, porém sabe-se que no sentido aboral o número de receptores diminui (Feighner et al., 1999). Os receptores de motilina pertencem à classe A de receptores (Harmar, 2004). O mecanismo de transdução está ligado à proteína G, que regula a liberação de seus segundos mensageiros intracelulares (AMP cíclico, diacilglicerol e inisitol trifosfato), os quais regulam a liberação de cálcio dos depósitos intracelulares (principalmente retículo sarcoplasmático) e a abertura de canais de cálcio (“L-type”) permitindo o influxo de cálcio do meio extracelular (Schramm & Grunstein, 1992; Depoortere & Peeters, 1995). O aumento na concentração de cálcio intracelular promoverá contração muscular. Paralelamente, o cálcio

também se liga a receptores voltagem-dependentes de potássio, cujo influxo contribui para a despolarização da célula e conseqüentemente para a contração muscular. Temporalmente, a contração muscular provocada pelo aumento de potássio (ligada à atividade elétrica) é posterior àquela provocada pelo aumento de cálcio (relacionada à atividade mecânica).

O mecanismo de liberação da motilina não está completamente esclarecido, mas certamente está relacionado à acetilcolina como mediador final, pois o pré-tratamento com bloqueadores da acetilcolina, como atropina e hexametônio, abole as contrações de fase III do MMC induzidas por motilina (Holle et al., 1992).

Considerando os efeitos da motilina sobre a atividade de contração, é bastante interessante utilizar substâncias cujas propriedades mimetizem sua ação para o tratamento de algumas doenças, como é o caso da gastroparesia induzida por *diabetes melitus* (Janssens et al., 1990; Tack et al., 1992; Silvers et al., 1998).

A Eritromicina (EM) é um antibiótico pertencente à classe dos macrolídeos, produzida por uma cepa de *Saccharopolyspora erythraea.* Esta substância foi introduzida clinicamente na década de 1950 por sua eficácia e poucos efeitos colaterais. Todavia, Itho et al. (1984) e Zara et al. (1985) demonstraram que a EM causava fortes contrações gastrintestinais em cães, sendo este efeito freqüentemente relacionado à dose.

O efeito pró-cinético da EM provavelmente advém de sua estrutura molecular análoga à da motilina e da atuação como agonista nos

receptores de motilina encontrados nas fibras dos músculos lisos e nas fibras nervosas que inervam do trato gastrintestinal (Peeters et al., 1989; Peeters, 1993; Coulie et al., 1998).

Uma das principais utilizações da EM como agente pró-cinético é em pacientes internados em terapia intensiva com alimentação por sonda e ventilação mecânica (Ritz, 2005). Os bons resultados obtidos são atribuídos, provavelmente, a um aumento da contratilidade antral e a uma inibição da contração pilórica, resultando em uma melhor coordenação antropiloroduodenal (DiBaise et al., 2001).

Como anteriormente citado, a regulação das funções do TGI é bastante complexa e integrada. Vários sistemas podem atuar simultaneamente sobre um parâmetro para executar uma função. O Sistema Nervoso Autônomo atua diretamente sobre o TGI através das vias α-adrenérgicas, porém as vias β-adrenérgicas, ainda que em menor intensidade, também desempenham efeito nesse sistema.

Receptores β-adrenérgicos são conhecidos por suas funções no controle e manutenção da freqüência cardíaca e da pressão arterial. Esses receptores expressam-se em três classes principais: β1, β2 e β3. Os receptores β1 são encontrados, por exemplo, no músculo cardíaco, β2 no músculo liso e em muitos outros locais (Brown & Taylor, 2003; Hoffman, 2003). Já o receptor β3 tem uma expressão mais heterogênea, sendo encontrado em células adiposas e tendo uma ligação ainda não muito bem estabelecida na lipólise (Anthony et al., 1998). Sabe-se que este receptor é

mais sensível aos agonistas e possui maior resistência ao bloqueio pelos antagonistas como o Propranolol (Brown & Taylor, 2003; Hoffman, 2003).

Os receptores β têm ampla distribuição corporal, sendo encontrados em todo sistema circulatório, respiratório e na musculatura lisa do trato digestório. A ativação desses receptores promove contração cardíaca e vasoconstrição, enquanto que no sistema respiratório desempenha um importante papel no tratamento de broncoconstrição em pacientes com asma, pois causa relaxamento da musculatura lisa bronquiolar. Além dos efeitos cardio-pulmonares, esses receptores possuem distribuição abrangente na musculatura lisa gastrintestinal (Taniyama et al., 1987; McIntyre et al., 1992; Ahluwalia et al., 1994; Anthony et al., 1998) e podem, portanto, promover relaxamento muscular, e causar déficit da atividade de contração gástrica (ACG) e do esvaziamento gástrico (Yanda & Summers, 1983).

β-agonistas (Isoproterenol) exibem ação Simpatomimética e β seletiva, agindo sobre o sistema cardíaco e respiratório. Devido a sua ação na estimulação cardíaca, já foi usado em emergências em pacientes com bradicardia ou bloqueio cardíaco, sobretudo naqueles que receberam marcapasso artificial ou em casos de arritmias ventriculares (Hoffman, 2003).

Drogas como o Isoproterenol têm ação farmacológica comparada aos efeitos da adrenalina e noradrenalina, exercendo poderosos efeitos sobre os receptores β e tendo baixa afinidade por receptores α. O

Isoproterenol relaxa quase todas as variedades de músculo liso, tendo ação pronunciada na musculatura brônquica e gastrintestinal (Anthony et al., 1998).

O mecanismo de ação é conhecido por estimular a adenilato ciclase, que promove o aumento de AMP cíclico. Este regula a produção de proteína-quinase, que regula a distribuição de cálcio intracelular. Além disso, AMP cíclico também reduz a afinidade da miosina pela cálcio-calmodulina, podendo suprimir a contração. O relaxamento é, portanto, causado por um decréscimo na concentração de cálcio livre no mioplasma, que pode ser por efluxo ou seqüestro pelo retículo sacoplasmático (Bülbring & Tomita, 1987). Os efeitos ocorrem por via local, na própria musculatura, haja visto que receptores beta-adrenérgicos parecem não estar presentes no plexo mioentérico (Taniyama et al., 1987).

O isoproterenol não possui recomendações para tratamentos gastrintestinais especialmente considerando-se sua ação potente no sistema cardíaco e circulatório (Hoffman, 2003). Esperou-se observar a efetividade de bloqueio do receptor β e ocorrência de perturbação do TGI frente ao agonista. Yanda & Summers (1983) estudaram a atividade de isoproterenol em cães, demonstrando o relaxamento da musculatura lisa.

Terapeuticamente, bloqueadores β (propanolol, atenolol (β1 seletivo) ou outros bloqueadores) não são utilizados para desempenhar funções no TGI. No entanto, podem causar os mais variados efeitos colaterais gastrintestinais, como: náusea, vômito, dor epigástrica, cólica abdominal,

diarréia, constipação, entre outras, alguns até contraditórios a sua ação (Hoffman, 2003). Há um grande número de pessoas no mundo que recebem terapia a partir de β bloqueador, o que o torna relevante de estudos mais detalhados e precisos.

Além disso, o fato de agonistas de adrenoreceptores inibirem a motilidade gastrintestinal permite inferir que o uso de antagonistas atuando como pró-cinéticos em certas doenças, é viável e que a via simpática poderia, nesses casos, contribuir para manutenção dos padrões normais da motilidade gástrica (De Ponti et al., 1996).

O'Brien et al. (1989) e McIntyre et al. (1992) demonstraram que há modulação da atividade motora e trânsito gastrintestinal através das vias beta-adrenérgicas, em testes realizados com voluntários saudáveis, obtendo resultados importantes de aceleração do trânsito.

É importante salientar que o TGI promove um processamento mecânico do alimento adaptado ao tipo de dieta ingerida, assim, grandes variações na proporção da composição dessa dieta, podem gerar alterações de motilidade e fluxo através do trato (Gregersen, 2003).

O TGI de cães é considerado um bom modelo experimental, pois possui uma forma anatômica e fisiológica razoavelmente análoga à do homem (Dressman, 1986). Desse modo, a utilização desse modelo é de grande relevância para o avanço do conhecimento científico e clínico deste sistema, com ênfase na necessidade de empregar métodos cada vez menos invasivos e mais ajustados ao bem estar dos indivíduos.

A área de gastroenterologia apresenta diversas técnicas para avaliação dos parâmetros relativos à motilidade do TGI. Os métodos mais tradicionais são os que utilizam radiação ionizante, como a radiografia contrastada e cintilografia por gama-câmara. A cintilografia é considerada uma boa técnica para avaliar trânsito gastrintestinal, porém, assim como na radiografia contrastada, o paciente fica exposto a radiação ionizante (Feinle et al, 1999).

Nas avaliações do trânsito, as radiografias seriadas com marcadores radiopacos ainda são usadas, apesar de demandarem circunstâncias não fisiológicas para sua realização e não apresentarem sensibilidade suficiente para detectar aceleração de trânsito (Camilleri & Ford, 1998).

Por outro lado, a medida da ACG comumente é realizada empregando-se métodos que avaliam as modificações das pressões e, portanto, das contrações intraluminais características do TGI. Todavia, por ser um método invasivo, o uso de balão barostático pode alterar as condições fisiológicas e o funcionamento do órgão em estudo (Ropert et al., 1993). Além disso, a correlação existente entre aumentos de pressão e contrações ainda permanece imprecisa, principalmente devido à dificuldade para interpretar e quantificar as contrações nos traçados, principalmente em regiões não oclusivas (Scott, 2003).

As medidas elétricas fornecem informações sobre os potenciais elétricos propagados na musculatura gastrintestinal e que podem promover

contrações, baseado no acoplamento eletromecânico (Qian et al., 2003). Medidas de potencial de superfície, como a eletrogastrografia (EGG), proporcionam subsídios para a compreensão da atividade de contração gástrica (Parkman et al., 2003; Qian et al., 2003).

Alternativamente, métodos empregando o biomagnetismo têm sido utilizados para o estudo do TGI. O biomagnetismo é uma área que estuda os campos magnéticos gerados pelo organismo vivo ou por materiais magnéticos presentes no mesmo, com fins científicos ou de diagnóstico. Técnicas biomagnéticas são convenientes por não serem invasivas, não interferirem com a fisiologia normal do órgão, nem utilizarem radiação ionizante, poupando o indivíduo de eventuais incômodos ou riscos à sua saúde (Corá et al., 2005).

A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) é uma técnica biomagnética que vem sendo utilizada devido às vantagens como baixo custo e boa sensibilidade. Trata-se de uma técnica inócua, livre de radiação ionizante, não invasiva e que possibilita, em alguns casos, trabalhar sem intervenção anestésica, facilitando a experimentação *in vivo*. A versatilidade da técnica, que permite avaliar trânsito e ACG, propicia a obtenção de resultados mais próximos das condições fisiológicas do objeto de estudo, conferindo similaridade com a aplicação clínica e terapêutica, permitindo avaliar a resposta motora gástrica frente o efeito de drogas (Miranda et al., 1997; Moraes et al., 2003).

De maneira geral, o trabalho objetivou ampliar os conhecimentos biofísicos, fisiológicos e farmacológicos da motilidade e do processo de esvaziamento gástrico, contribuindo para possíveis aplicações clínicas no tratamento de disfunções motoras ou outros estados graves que apresentem sintomas relacionados à perda total ou parcial do funcionamento esperado para o estômago. Especificamente, a motivação foi estudar o efeito modulador da EM e do propranolol sobre a atividade motora gástrica, segundo o perfil do esvaziamento e atividade de contração (freqüência e amplitude).

II - OBJETIVO

Esse trabalho foi desenvolvimento no Laboratório de Biomagnetismo, Departamento de Física e Biofísica do Instituto de Biociências de Botucatu – IBB – UNESP, através do Programa de Pós-graduação em Farmacologia, empregando as técnicas de Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) e Eletrogastrografia (EGG - Biopac Systems, Inc.).

Especificamente os objetivos foram avaliar a influência de fármacos nos processos de esvaziamento e de contração gástrica em cães, como abaixo apresentado:

- Analisar e caracterizar o Esvaziamento Gástrico:
  - Durante o período de controle;
  - Sob efeito de Eritromicina.

- Analisar e caracterizar a Atividade de Contração Gástrica, em termos de amplitude (índice de motilidade) e freqüência:
  - Durante o período de controle;
  - Sob efeito de Eritromicina;
  - Sob efeito de Propranolol.

Deve-se enfatizar que todo o procedimento empregado neste trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP (anexo).

III – BASES TEÓRICAS

III.I – BIOMAGNETISMO

As medidas biomagnéticas são caracterizadas por registros não invasivos dos sinais magnéticos produzidos no meio biológico. O campo magnético biológico está associado à atividade elétrica inerente aos tecidos excitáveis e, por ser muito fraco, é detectado somente através de sensores especialmente desenvolvidos (Williamson & Kaufman, 1981; Romani et al., 1982). Com os avanços tecnológicos que culminaram no aperfeiçoamento das técnicas, o biomagnetismo tornou-se uma área de interesse para abordar diferentes parâmetros biológicos.

As técnicas biomagnéticas apresentam algumas características peculiares, como o fato de serem totalmente não invasivas e desprovidas de radiação ionizante (Andrä & Nowak, 1998). Estas técnicas empregam sistemas de medidas biomagnéticas como o SQUID (*Superconducting Quantum Interference Device*) (Sternickel & Braginski, 2006), Magnetômetros de Fluxo Saturado (Carneiro et al., 1999), Magnetômetros Magnetoresistivos (Andrä et al., 2000) e Bobinas de Indução (Miranda et al., 1992).

Os sensores do tipo SQUID são extremamente sensíveis e, por isso, são capazes de detectar os campos magnéticos associados à

atividade elétrica de órgãos como o cérebro, coração e estômago. Estes sensores são utilizados, inclusive na prática clínica, para registros da atividade cardíaca (Magnetocardiografia – MCG) (Romani et al., 1982), encefálica (Magnetoencefalografia – MEG) (Hämäläinen et al., 1993) e gástrica (Magnetogastrografia – MGG) (Bradshaw et al., 2005).

O biomagnetismo aplicado em Gastroenterologia tem a finalidade de analisar diversos aspectos relacionados à motilidade gastrintestinal. Estas medidas biomagnéticas podem ser realizadas diretamente, pela detecção da atividade elétrica e, conseqüentemente, do campo magnético associado aos órgãos (Bradshaw et al., 2005) ou ainda indiretamente, através da ingestão de materiais com propriedades magnéticas (Andrä & Nowak, 1998).

A musculatura lisa do trato gastrintestinal (TGI) possui uma atividade contrátil regulada, principalmente, por estímulos provenientes da inervação extrínseca e intrínseca (Hasler, 1995).

Sob condições quiescentes, o TGI permanece com uma atividade elétrica caracterizada por despolarizações rítmicas no potencial de membrana em repouso, conhecida por ondas lentas ou atividade elétrica de controle (ECA). As ondas lentas propagam-se distal e circunferencialmente através das camadas musculares, com uma freqüência variável de acordo com as diferentes regiões do TGI. As contrações do TGI não são induzidas pelas ondas lentas, mas estão vinculadas à atividade elétrica de resposta (ERA) (Rao & Schulze-Delrieu,

1993; Quigley, 1996, 2000). Estas propriedades eletromecânicas do TGI são passíveis de medidas biomagnéticas.

Benmair et al. (1977) foram os pioneiros em aplicar o Biomagnetismo para avaliar a motilidade gastrintestinal através da ingestão de um alimento-teste marcado com material magnético. Estes autores introduziram um dispositivo baseado em um sistema construído com uma bobina para excitar o material magnético, em uma freqüência de 50 Hz, e outra para detectar a resposta produzida. Com essa instrumentação, foram avaliados o esvaziamento gástrico e o tempo de trânsito intestinal da refeição marcada (Benmair et al., 1977a, b).

Muito embora a técnica biomagnética apresentada por Benmair tenha proporcionado um avanço nos estudos da motilidade gastrintestinal, houve a necessidade de aprimorá-la na tentativa de melhorar a sensibilidade e a razão sinal/ruído, uma vez que nestes primeiros estudos foram utilizados 50 g do material magnético misturado à refeição-teste.

Deste modo, a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) foi refinada e mostrou acurácia para estudar a motilidade gastrintestinal. A BAC utiliza bobinas de indução para registrar as variações de fluxo magnético obtidas a partir da resposta de um material ferromagnético (ferrita) ingerido, através da aplicação de um campo magnético alternado no meio biológico (Miranda et al., 1992).

A atividade de contração pode ser registrada pela BAC, uma vez que o sinal detectado por essa técnica é altamente dependente da

distância e muda seu perfil conforme varia a distância entre o material magnético e o sensor. Como a refeição teste distribui-se pelo órgão, as contrações fazem com que ela se afaste ou se aproxime da superfície abdominal onde está posicionado o sensor (Romeiro et al., 2006). Os sinais originados podem ser detectados e analisados através de técnicas de processamento digital de sinais.

A BAC reúne algumas das principais características das técnicas biomagnéticas aliadas ao baixo custo, alta razão sinal/ruído e sensibilidade suficiente para estudos envolvendo o TGI.

III.II – MATERIAIS MAGNÉTICOS

Os materiais utilizados em susceptometria podem ser caracterizados e diferenciados em função da sua resposta pela aplicação do campo magnético externo. Esses materiais apresentam propriedades ferromagnéticas, ou seja, possuem alta susceptibilidade magnética e respondem fortemente com a aplicação de um campo magnético externo. Os materiais ferromagnéticos não estão magnetizados em seu estado normal, sendo constituídos por domínios magnéticos com orientação aleatória e campo magnético resultante nulo (Reitz et al., 1982).

Com a aplicação de um campo magnético externo $\left(\vec{B}_e\right)$ haverá orientação dos domínios magnéticos no sentido do campo aplicado,

ocasionando a magnetização desse material. Isso promove um aumento do campo magnético resultante $\left(\vec{B}_R\right)$, que é a soma do campo magnético externo $\left(\vec{B}_e\right)$ com o campo de magnetização $\left(\vec{B}_M\right)$, segundo a Eq. 1.

$$\vec{B}_R = \vec{B}_e + \vec{B}_M \tag{1}$$

Os materiais ferromagnéticos podem ser utilizados em duas formas de apresentação distintas: como traçadores ou marcadores magnéticos. Traçadores Magnéticos (TM) são caracterizados como um conjunto de partículas magnéticas dispersas, ao passo que os Marcadores Magnéticos (MM) são constituídos por partículas de material concentradas. Ambos podem ser monitorados no interior de determinados órgãos, como no TGI, porém, os TM são utilizados em medidas de distribuição enquanto que os MM são adequados para uma localização pontual (Oliveira et al., 1996; Corá et al., 2005).

Os únicos materiais ferromagnéticos em temperatura ambiente são o ferro, o níquel e o cobalto. Sob a designação de ferritas, têm-se basicamente os óxidos de ferro, embora possam apresentar manganês em sua estrutura molecular. A ferrita ($MnFe_2O_4$), utilizada neste trabalho, é um complexo insolúvel que, devido ao tamanho das suas moléculas, não é absorvida pela mucosa gastrintestinal constituindo, portanto, um material totalmente inerte no TGI humano (Frei et al., 1968).

III.III – PRINCÍPIOS FÍSICOS BÁSICOS

As bases teóricas acerca da instrumentação utilizada na detecção do campo magnético biológico fundamentam-se nas observações experimentais do inglês Michael Faraday, que formulou a Lei de Indução de Faraday.

III.III.I – LEI DE INDUÇÃO DE FARADAY

A Lei de Indução de Faraday descreve que a variação temporal do fluxo magnético em uma bobina induz uma força eletromotriz (fem) em suas extremidades. Esta variação de fluxo gera uma corrente elétrica alternada, que produz suas próprias linhas de campo magnético. Conseqüentemente, com esses experimentos foi constatada uma forte correlação entre eletricidade e magnetismo, cuja unificação formal ocorreu posteriormente com as equações de Maxwell (Hobbie, 2001).

Basicamente, uma demonstração do experimento realizado por Faraday pode ser feita aproximando-se um ímã em movimento de uma espira em repouso, onde se observa o aparecimento de uma corrente elétrica (i) nesta espira (figura III.01). Se o ímã for afastado, a i apresentará sentido contrário; por outro lado, se o movimento do ímã for

interrompido, corrente elétrica (i) desaparecerá. Então, quando o ímã é movimentado próximo à espira aparece uma força eletromotriz (fem).

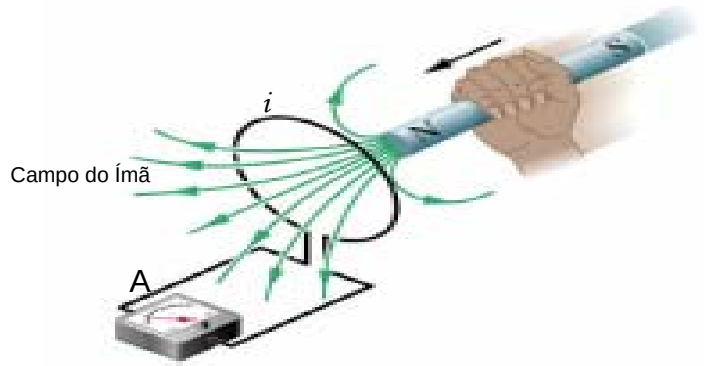


Figura III.01: Corrente elétrica induzida (i) detectada por um amperímetro (A) devido a movimentação do ímã próximo a uma espira fechada.

Deste modo, o fluxo magnético (Φ), através de uma superfície com inclinação angular (θ), imersa em um campo magnético (B) é expressa por $\Phi = B \cdot A \cdot \cos\theta$ (figura III.02). No Sistema Internacional (SI), o fluxo magnético é dado em Weber, onde 1Wb = 1 T.m^2.

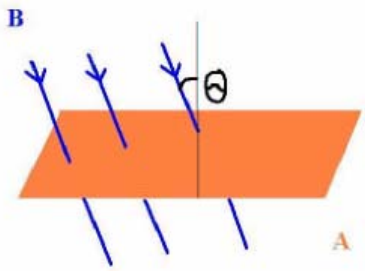


Figura III.02: O fluxo magnético através de uma superfície depende da inclinação angular θ da superfície em relação ao vetor $\vec{B}$.

Como o campo magnético (B) depende de fatores geométricos, a fem (ε) pode ser expressa de acordo com a Eq.(2).

$$\varepsilon = -\mathrm{N}\frac{\mathrm{d}\Phi_{\mathrm{B}}}{\mathrm{dt}} \tag{2}$$

De acordo com estes conceitos, a Lei de Indução de Faraday explica que a variação temporal do fluxo de campo magnético (Φ_{B}) através de uma bobina com N espiras, induzirá uma fem (ε) em cada espira. Para campos magnéticos alternados, a Eq. (2) pode ser escrita como:

$$\varepsilon = -\mathrm{A}\cdot\cos\theta\cdot\mathrm{N}\frac{d(\Phi_{\mathrm{B}})}{dt} \tag{3}$$

A fem induzida é oposta à variação de fluxo magnético; por conseguinte, as equações apresentam um sinal negativo, explicado pela Lei de Lenz. Segundo essa lei, a corrente elétrica (i) induzida é capaz de ocasionar o aparecimento de suas próprias linhas de campo magnético, contrapondo-se à perturbação inicial provocada pela variação de fluxo magnético.

Baseado na Eq. (3), os parâmetros $\varepsilon, N, A, \theta$ podem ser medidos por uma bobina imersa em um campo magnético alternado $\vec{B}(t)$ e que pode ser empregada como um detector de campo magnético.

III.III.II – BOBINAS DE INDUÇÃO

A indução ocorre quando duas bobinas estão próximas e uma corrente (i) é aplicada em uma destas bobinas para estabelecer um fluxo magnético (Φ) na outra. Alterando a corrente no tempo $i(t)$, será gerada uma fem (ε) na outra bobina. Desta forma, haverá um acoplamento entre as bobinas, que pode ser caracterizado pela indução mútua (M) que será expressa, de acordo com a Lei de Faraday, pela Eq. (4).

$$\varepsilon = -M\frac{di_e}{dt} \tag{4}$$

Nessa situação, a transferência de energia é realizada sem contato elétrico, devido à presença do campo magnético gerado por uma bobina sobre a outra. Tal fenômeno pode ser demonstrado pela figura III.03, visto que no instante em que a chave C é fechada, estabelece-se uma corrente elétrica na bobina F e o amperímetro A acusa o aparecimento de uma corrente induzida na bobina G. Enquanto C permanece fechada,

proporcionando uma corrente constante à bobina F, não se observa corrente induzida em G. Entretanto, no momento em que a chave C é desligada, a corrente induzida reaparece na bobina G, em sentido contrário ao anterior.

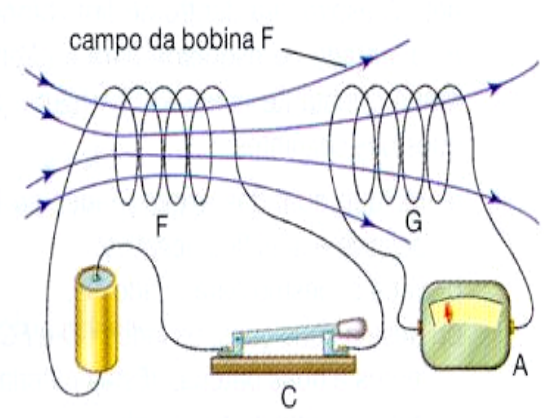


Figura III.03: No instante em que a chave C é aberta ou fechada surge uma corrente elétrica induzida na bobina G.

Desse modo, infere-se que a bobina F tem funcionamento equivalente ao ímã empregado na figura III.01 cuja finalidade era induzir o aparecimento de corrente elétrica (i) na espira. A diferença é que nesse caso, a corrente é induzida em toda uma bobina G e não apenas em uma espira. O fechamento ou não da chave C, por sua vez, corresponde à aproximação ou afastamento do ímã da figura III.01.

Baseando-se nestes princípios, bobinas podem ser empregadas para excitar ou detectar campos magnéticos alternados provenientes de materiais introduzidos no meio biológico, como a presença de traçadores ou marcadores magnéticos no TGI.

III.IV – SUSCEPTÔMETRO AC

O susceptômetro AC é um sensor magnético que utiliza uma bobina de indução como referência e uma outra para detectar o sinal magnético (Miranda et al., 1992). Portanto, este sensor magnético possui dois pares de bobinas em um arranjo coaxial, sendo cada par composto por uma bobina de excitação (externa) e outra para a detecção dos sinais (internas), arranjadas na configuração gradiométrica de primeira ordem, e separados por uma distância denominada linha de base (figura III.04).

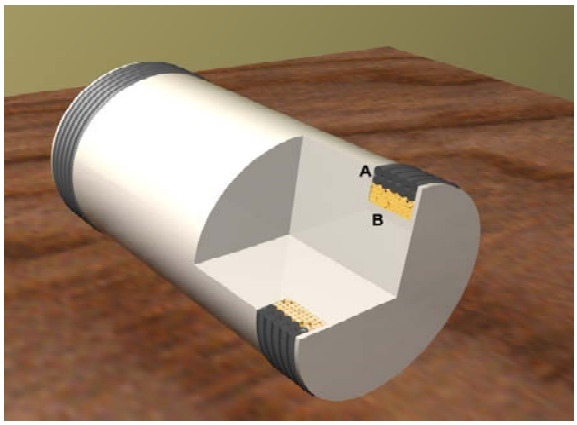


Figura III.04: Susceptômetro AC em arranjo coaxial. (A) bobina excitadora e (B) bobina detectora.

Cada par de bobinas (excitação/detecção) pode ser considerado como um transformador simples de fluxo magnético, que permite a transferência de energia eletromagnética devido ao campo magnético gerado pela bobina de excitação sobre a bobina de detecção.

Como o arranjo instrumental do susceptômetro AC apresenta dois pares de bobinas, logo, este dispositivo trabalha como um transformador duplo de fluxo magnético com núcleo de ar, onde o par (excitação/detecção) localizado mais distante do material magnético (ferrita - $MnFe_2O_4$) atua como referência (figura III.05).

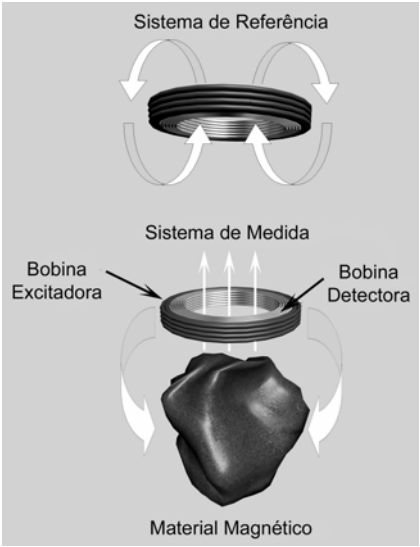


Figura III.05: Esquema de funcionamento de um único sensor magnético da BAC com arranjo gradiométrico e coaxial.

Portanto, quando nenhum material magnético está próximo do sistema de detecção e uma corrente oscilante com freqüência ω é aplicada sobre as bobinas excitadoras, a voltagem de saída (V_d) a partir das bobinas detectoras é dada pela Eq. (5).

$$V_d = (\mathrm{M}_{12} - \mathrm{M}_{34})\frac{dI_e}{dt} + RI \qquad (5)$$

$\Delta M = M_{12} - M_{34}$ é a diferença entre a indutância mútua para os dois pares de bobinas;

R é a resistência elétrica na bobina de detecção;

I_e corrente fornecida para as bobinas excitadoras;

I corrente alimentada para o amplificador.

As bobinas excitadoras induzem fluxos magnéticos iguais nas bobinas detectoras, que são arranjadas na configuração gradiométrica de primeira ordem. Assim, quando não houver material magnético nas proximidades do sistema de medida, o sinal de saída será muito baixo.

Aproximando-se uma massa magnética em um dos lados do susceptômetro, ocorrerá um desbalanceamento nos fluxos magnéticos do sistema gradiométrico. O fluxo magnético resultante do acoplamento entre a massa magnética e a bobina detectora permite a detecção e o monitoramento deste material. O campo magnético detectado pelo sistema é da ordem de *m*G. O susceptômetro AC é sensível à variação entre a distância da bobina detectora e o material magnético sendo, portanto, muito sensível ao movimento da ferrita no interior do órgão.

Assim, com a aproximação de qualquer material magnético, ocorrerá um desbalanceamento na voltagem de saída (V_d), devido à diferença de fluxo concatenado sobre cada bobina detectora. A variação

temporal do fluxo magnético $(\Delta\Phi)$ é detectada como uma fem (ε), conforme a Eq. (6).

$$\varepsilon = -\frac{d\Delta\Phi}{dt} = M'\frac{dI_e}{dt} \tag{6}$$

Onde M' = diferença de indutância mútua.

Esta fem pode ser medida, digitalizada e adquirida continuamente através de um amplificador "Lock-in", uma placa analógico/digital e um computador. Essencialmente, o "Lock-in" é um amplificador sensível à fase que detecta a fem em uma freqüência específica, usando um sinal de referência. Como resultado final, o Lock-in é muito efetivo na redução de sinais provenientes do ruído ambiental e torna possível a detecção e registro de sinais magnéticos fracos, em ambientes não blindados. A figura III.06 mostra o diagrama de bloco eletrônico do sistema de BAC.

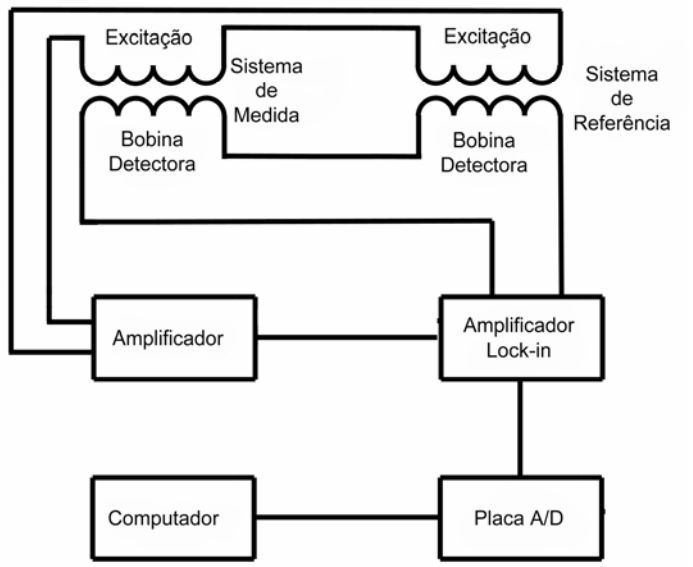


Figura III.06: Diagrama de bloco eletrônico do sistema de BAC.

A Biosusceptometria AC foi utilizada para avaliar a motilidade gastrintestinal, especificamente, para determinar o tempo de trânsito orocecal (TTOC) (Baffa et al., 1995), esvaziamento gástrico (EG) (Miranda et al., 1992), atividade de contração gástrica (ACG) em humanos (Miranda et al., 1997) e em cães (Moraes et al., 2003), tempo de trânsito esofágico e faringeano (Daghastanli et al., 1998; Miquelin et al., 2001). Deve ser enfatizado que todos estes estudos foram realizados com a ingestão de um alimento teste magneticamente marcado por um traçador magnético (TM).

Além dos estudos de motilidade, o susceptômetro AC também foi empregado para aquisição de imagens de fantomas magnéticos *in vitro* (Moreira et al., 2000).

III.V – BIOSUSCEPTOMETRIA AC COM MULTI-SENSORES

Um sistema de Biosusceptometria AC com multi-sensores foi implementado e utilizado no estudo da motilidade do TGI com traçadores magnéticos. Com esse dispositivo, foi possível caracterizar a distribuição intragástrica de um pequeno volume de uma refeição-teste magnética (Américo et al., 2007) e estudar a motilidade colônica e resposta intestinal à alimentação (Romeiro et al., 2006).

No estudo com marcadores magnéticos, BAC multi-sensores foi utilizada para avaliar a desintegração de formas farmacêuticas sólidas e o

trânsito gastrintestinal (Corá et al., 2003, 2006a, b) e na apresentação de imagens magnéticas desse processo (Corá et al., 2005b).

Esta instrumentação possui um par de bobinas de excitação (ϕ=11 cm) e sete pares de bobinas para a detecção do sinal magnético (ϕ=3,5 cm), na configuração gradiométrica de 1ª ordem e dispostos coaxialmente. O conjunto de sensores foi construído com um sistema excitador comum externo e sete detectores eqüidistantes centrais, sendo que seis detectores formam os vértices de um hexágono regular e o sétimo ocupa o centro (figura III.07).

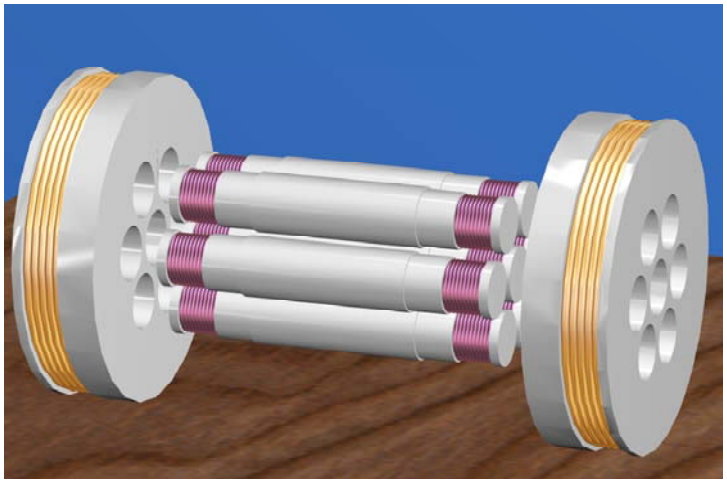


Figura III.07: Sistema de Biosusceptometria AC multisensores, com sete pares de bobinas detectoras (internas) e um par de bobinas excitadoras (externas).

III.VI - ELETROGASTROGRAFIA

A Eletrogastrografia (EGG) consiste no registro da atividade mioelétrica gástrica através de eletrodos colocados sobre a pele. Desde os primeiros achados de atividade elétrica no TGI (Alvarez, 1922), diversos estudos empregando o EGG visam sua aplicação mais efetiva na prática clínica.

O EGG é um técnica muito atraente para o estudo da atividade de contração gástrica normal bem como de desordens motoras (Sun et al., 1995), especialmente aquelas relacionadas a freqüência de contração, no homem e também em cães. Convém salientar ainda que o EGG é uma técnica não invasiva, que não altera a fisiologia gástrica normal e nem envolve radiação ionizante.

O sinal obtido pelo EGG é composto primariamente pela Atividade Elétrica de Controle (ECA), também denominada “ondas lentas”, uma atividade periódica e onipresente que não é indicativa de atividade contráctil. O sinal também é caracterizado pela Atividade Elétrica de Resposta (ERA), associada à presença de ondas de contração.

Sobre o sinal registrado pelo EGG, há consenso no que concerne a sua configuração senoidal , bem como sua freqüência, que no homem é cerca de 3 ciclos por minuto (cpm) (Smout et al., 1980). Normalmente, anormalidades nesta freqüência (disritmias) podem estar associadas com desordens da motilidade gástrica. Porém, o significado clínico e fisiológico

das alterações na amplitude do EGG ainda não está completamente esclarecido (Quigley, 1996).

Diversos autores presumem que o aumento de intensidade registrado na eletrogastrografia reflete um aumento na atividade contráctil fásica do estômago (Smout et al., 1980), enquanto outros autores consideram que após uma refeição os eletrodos superficiais tornam-se mais próximos do estômago distendido permitindo melhores condições de registro elétrico (Brown et al., 1975). Atualmente, considera-se que o aumento na amplitude do sinal seja resultante dos dois fatores, ou seja, um reflexo do aumento de contratilidade e também da alteração espacial entre os eletrodos e o estômago (Chen & McCallum, 1994; Mintchev et al., 1993).

Diversos fatores influenciam o registro do EGG, como a disposição dos eletrodos na pele (Smout et al., 1994), o uso de refeições não padronizadas (Levanon et al., 1998), movimentos do corpo que provocam artefatos (Quigley, 1996) e, principalmente a intensidade do sinal frente ao cardíaco.

Dessa forma, em virtude da diferença de intensidade entre o EGG e o ECG (eletrocardiografia) equipamentos específicos foram desenvolvidos como a linha da Biopac, utilizados nesse trabalho, com amplificadores e sistemas de filtros já otimizados para a detecção dos EGG (Fig. III.08).

Figura III.08: Plataforma de aquisição e amplificadores de eletrogastrografia BIOPAC Systems, Inc.

Enquanto a medida de EGG pode ser considerada relativamente simples, a análise de dados é complexa e envolve um intricado processamento de sinais que se utiliza da transformada rápida de Fourier (FFT) e *Running spectral analysis* (RSA). Considerando a baixa relação sinal/ruído, utilizam-se filtros do tipo passa-banda, passa-baixa e passa-alta para eliminar o ruído proveniente de outros órgãos (coração, intestino delgado, etc) e minimizar efeitos gerados por artefatos como movimentos respiratórios.

O EGG foi utilizado para demonstrar sua eficácia em diversos estudos envolvendo principalmente náusea, vômito e disritmias (Koch & Stern, 1994). Além disso, sua não invasividade é atraente em situações como a gravidez. No entanto, seu papel real na prática clínica ainda precisa ser estabelecido (Quigley, 1996), tornando imprescindível novos estudos que demonstrem sua aplicabilidade e seu significado quando comparado a outras técnicas.

III.VII – AGENTES FARMACOLÓGICOS

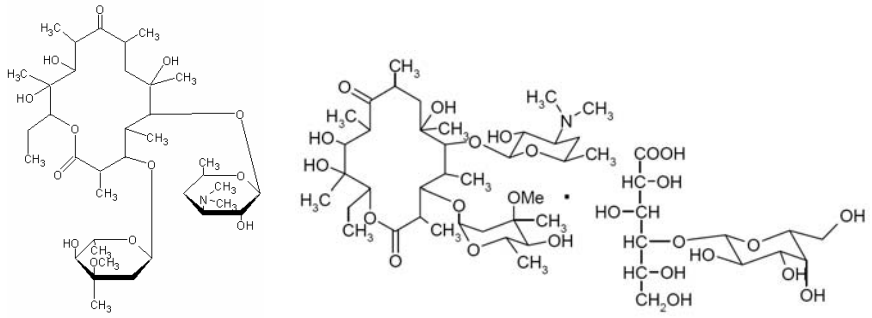
Nesse trabalho foram usadas drogas com potencial terapêutico para indivíduos que apresentem sintomas ou disfunções de motilidade.

ERITROMICINA:

A eritromicina – EM – (figura III.09-A) é um antibiótico macrolídio de ação bacteriostática e estrutura análoga à motilina, portanto, tem a capacidade de se ligar como agonista em seus receptores presentes no trato gastrintestinal. Em virtude dessa propriedade pode ser utilizado como droga pró-cinética (Itho et al., 1984).

A droga utilizada foi o Tromaxil, lactobionato de eritromicina - LEM (figura III.09-B), fabricado por CURASAN-AG – Kleinostheim, Germany, importado e distribuído no Brasil por OPEM REPRESENTAÇÃO IMPORTADORA EXPORTADORA E DISTRIBUIDORA LTDA – São Paulo – SP, que gentilmente fez a doação para a realização desse trabalho.

Essa substância é um sal solúvel e em solução libera a molécula de EM, que é uma base. As doses administradas foram de 5 mg/kg de LEM, correspondente a 3 mg/kg de eritromicina base, aproximadamente. A solução infundida foi de 1 mg/ml a cada 6 segundos, 0,1% de LEM, em dose única.



(**A**) (**B**)

Figura III.09: (A) Fórmula estrutural da Eritromicina; (B) Lactobionato de Eritromicina.
(A) - http://es.wikipedia.org/wiki/Imagen:Erythromycin.png; acesso em 8/02/2007.
(B) - http://opus.bibliothek.uni-wuerzburg.de/volltexte/2006/2016/pdf/Dissertation.pdf

PROPRANOLOL:

É um antagonista não seletivo de receptores beta. A droga utilizada é o Cloridrato de D,L Propranolol (figura III.10), fabricado por *Sigma-Aldrich Co.* A dose administrada foi de 1 mg/kg, solução de 1 mg/ml, dose única, *in bolus*.

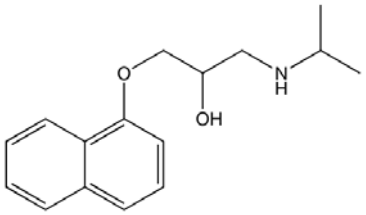


Figura III.10: Fórmula estrutural do propranolol.
http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Propranolol.png; acesso em 8/02/2007.

ISOPROTERENOL:

É um agonista não seletivo de receptores beta. A droga utilizada é o Cloridrato de D,L Isoproterenol (figura III.11), fabricado por *Sigma-Aldrich Co.* A dose administrada foi de 0,5 µg/kg, solução de 5 µg/ml, dose única, *in bolus*.

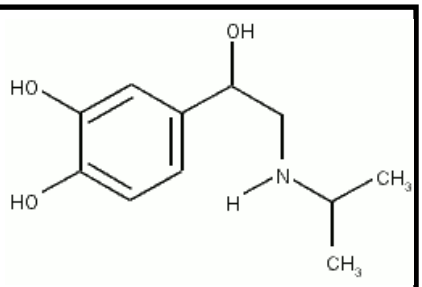


Figura III.11: Fórmula estrutural do isoproterenol.
http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Isoproterenol.png; acessado em 8/02/2007.

IV – MATERIAIS E MÉTODOS

Foram empregados doze cães (*Canis familiares*), fêmeas, sem raça definida, com peso médio de 10 Kg (mínimo 8kg; máximo 12kg), isentos de sinais aparentes de doença infecto-contagiosas e provenientes do Biotério Central da UNESP - Botucatu. Os animais foram colocados em baias individuais para adaptação às mesmas e aos tratadores. Além disso, receberam Ivermectina (antiparasitário) por via subcutânea na dose de 0,025 mg/Kg de peso vivo e alimentação uma vez ao dia, por 8 dias, ambos os procedimentos visando uniformizar suas condições gerais.

Os animais tiveram estado prandial controlado em jejum de 24 horas antes dos experimentos. Em seguida, foi fornecida uma refeição teste marcada com ferrita em pó (traçador magnético).

A refeição de prova constitui-se de uma mistura homogênea contendo 50g de carne bovina moída e cozida, 45g de ração Eukanuba® triturada e 5g de ferrita em pó (traçador magnético), totalizando aproximadamente 250Kcal.

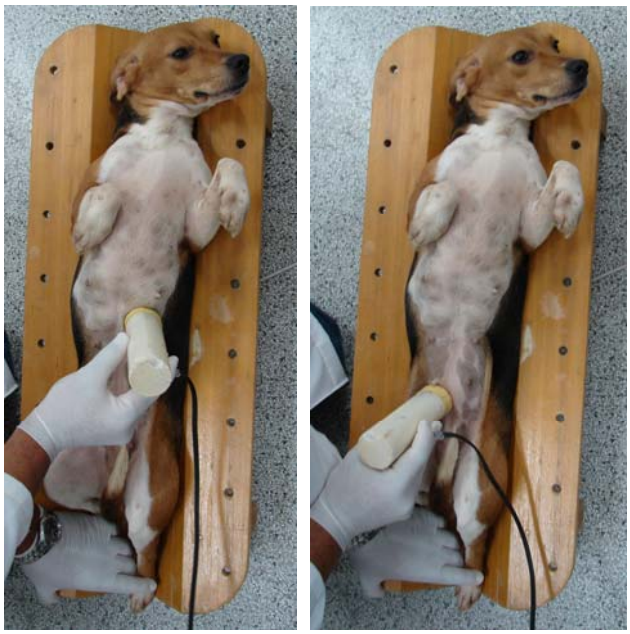
IV.I – ESVAZIAMENTO GÁSTRICO

Dez minutos antes da ingestão da refeição teste, os animais foram posicionados em decúbito dorsal para o registro do valor basal. Cinco minutos após a ingestão da refeição teste, os animais foram reposicionados em decúbito dorsal e iniciaram-se os registros de intensidade magnética proveniente do alimento marcado no estômago. As leituras foram realizadas com o sensor de BAC sobre o estômago baseando-se em referências anatômicas como o processo xifóide e o gradil costal esquerdo. Determinou-se o ponto de máxima intensidade magnética e todas as leituras posteriores foram realizadas nesse ponto.

Esse mapeamento foi realizado em intervalos de 60 minutos, durante um período de 10 horas ou até que todo o sinal proveniente da refeição teste retornasse aos valores basais no ponto utilizado para os registros. Paralelamente, a região do cólon proximal também foi monitorada para determinar o tempo de trânsito oro-cecal (TTOC).

O mesmo animal também era submetido a um segundo experimento realizado após 3 dias, visando avaliar a interferência da eritromicina (EM) sobre o esvaziamento gástrico e sobre o TTOC. A EM (dose de 3 mg/kg, I.V.) foi administrada 15 minutos após ingestão da refeição teste. O período de infusão foi de 5 minutos e os procedimentos experimentais adotados foram os mesmos descritos acima.

Todo esse protocolo experimental foi realizado sem a utilização de anestésico e empregando um único detector magnético, conforme ilustrado pela figura IV.01.



A B

Figura IV.01: Esquema de posicionamento do mono-sensor BAC.
(A) Mono-sensor posicionado sobre o estômago;
(B) Mono-sensor posicionado sobre a região cecal.

IV.II – ATIVIDADE DE CONTRAÇÃO GÁSTRICA

O protocolo experimental empregou a mesma refeição de prova descrita acima e foi realizado após indução anestésica utilizando o sistema de BAC com multi-sensores (Fig III.07).

Cinco minutos após a ingestão da refeição teste, os animais foram submetidos ao procedimento anestésico (pentobarbital sódico, 30mg/kg) e colocados na calha de experimentação para o posicionamento dos sensores BAC e eletrodos para EGG, figura IV.02. Dez minutos após o procedimento anestésico, a aquisição dos sinais foi iniciada, sendo quinze minutos para o período de controle. Após esse período, foi realizada a aplicação endovenosa da droga de interesse, continuando a mensuração por 30 minutos após a completa infusão.

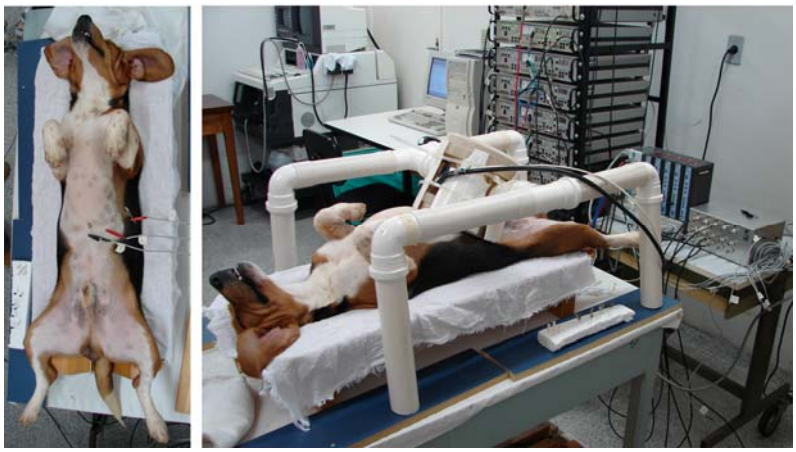


Figura IV.02: (A) Esquema de posicionamento dos eletrodos para EGG. (B) Posicionamento do multi-sensores BAC.

Eritromicina. Após o procedimento geral, a EM (3 mg/kg), foi infundida lentamente por uma via endovenosa (5 minutos) e a mensuração foi realizada por 30 minutos após a aplicação da droga.

Propranolol. Três dias após o procedimento de eritromicina, o mesmo animal foi submetido aos mesmos procedimentos gerais para a avaliação dos efeitos do propranolol. A administração de propranolol (1 mg/kg) foi por infusão *in bolus* em via endovenosa, em 30 segundos. Após a administração de propranolol, a aquisição seguiu por 15 minutos e, então, foi efetuada a aplicação endovenosa (*in bolus*) de isoproterenol (0,5 µg/kg), continuando a mensuração por mais 15 minutos.

IV.VI – ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram processados diferencialmente para cada etapa do trabalho.

Etapa I – Esvaziamento Gástrico: os dados foram processados em ambiente OriginLab (OriginLab Corporation) empregando-se processos de interpolação com suavização de curvas.

Nas medidas de esvaziamento gástrico foram avaliados o tempo de esvaziamento gástrico (TEG) e o tempo de trânsito orocecal (TTOC). Desta forma, o TEG, em semelhança ao T½ empregado nos estudos de esvaziamento de líquidos, foi definido como sendo o tempo entre o final da ingestão e o instante no qual o sinal decai para a metade do valor máximo (pico). Por outro lado, o TTOC foi definido como o tempo entre o final da ingestão e a chegada do alimento teste ao ceco, tomado como

sendo o instante em que o sinal atingiu o dobro do nível basal sobre a região do cólon proximal.

Etapa II – Atividade de Contração Gástrica (AGC): os dados foram processados em ambiente MatLab (Mathworks Inc.), utilizando Transformada Rápida de Fourier (FFT) e filtro tipo Butterworth bidirecional passa-banda com freqüência de corte variando entre 0,01 e 0,2 Hz.

Nestes experimentos foram quantificadas, basicamente, a intensidade e a freqüência da ACG. A intensidade foi avaliada através do índice de motilidade (IM) e área sob a curva. O IM foi definido como (Richards et al., 1990):

$IM = 10 \log(\frac{NA}{\Delta t})$, onde:

N é o número de contrações;

A é a amplitude das contrações;

Δt é o intervalo de tempo para essas quantificações (180 segundos).

Visando avaliar a amplitude do sinal de uma outra forma, empregou-se também uma quantificação definida por “área sob a curva” (AUC – *Area Under Curve*), que foi realizada tomando-se a raiz quadrada média do quadrado da amplitude em um determinado intervalo de tempo (200 segundos).

A freqüência foi avaliada empregando-se a Transformada rápida de Fourier (FFT) e o seu perfil temporal através da *Running spectral analysis* (RSA). A RSA é caracterizada pela FFT de partes seqüenciais do sinal, isto é, o sinal é dividido em partes de 204,8 s onde são aplicados passos ("overlaping") de 60 s que percorrem, através dessa "janela", o sinal inteiro. Os valores de amplitude e freqüência foram comparados entre os períodos de controle e resposta à droga.

A análise estatística foi realizada aplicando-se teste *t-student,* independente, para avaliar o esvaziamento gástrico e dependente, para avaliar a ACG, sendo considerados significante para $p < 0.01$.

V – RESULTADOS

V.I. ESVAZIAMENTO GÁSTRICO

Para cada experimento com EM há um período de controle com o mesmo animal, realizado com três dias de antecedência. As figuras V.01 e V.02 ilustram o registro do esvaziamento gástrico e do tempo de trânsito orocecal (TTOC) no período de controle e sob efeito de EM, respectivamente.

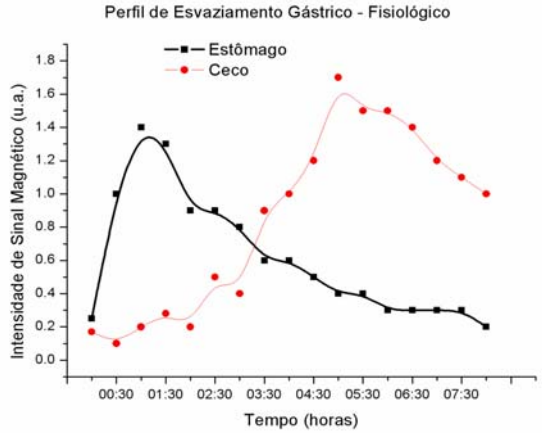


Figura V.01: Perfil do esvaziamento gástrico e TTOC no período de controle.

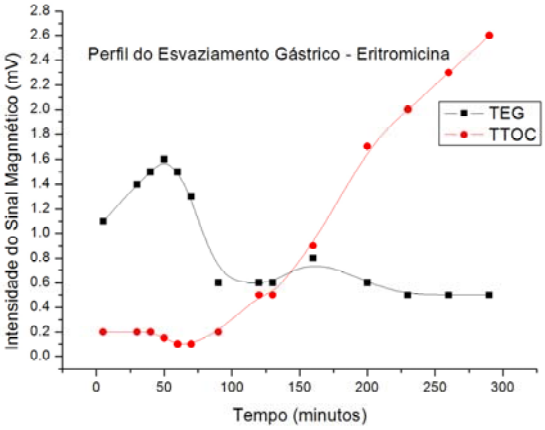


Figura V.02: Perfil do esvaziamento gástrico e TTOC sob efeito de eritromicina.

Como o experimento utilizou refeição sólida, o esvaziamento não segue um padrão exponencial em semelhança ao de alimentos líquidos. Observa-se que no início (primeiros 30 minutos), antes de se iniciar o processo mais intenso de esvaziamento, ocorre um aumento da intensidade do sinal magnético, indicando um acúmulo (acomodação) do alimento no estômago. Comparando as duas curvas (controle e eritromicina), nota-se que a droga empregada diminui o TEG. Durante o processo de esvaziamento gástrico o alimento propelido alcança a região cecal, onde se acumula e posteriormente transita até ser excretado.

A tabela V.I mostra os resultados médios obtidos para os 12 cães. Verifica-se que tanto o TEG e TTOC sofreram significante ($p<0,01$) diminuição, demonstrando o efeito de aceleração do trânsito provocado pela eritromicina.

Tabela V.I: Média e desvio padrão para Tempo de Esvaziamento Gástrico (TEG ou T½) e Tempo de Trânsito Oro-Cecal (TTOC) fisiológico e sob efeito de eritromicina. Valores expressos em minutos.

Animal	TEG - Controle	TEG - EM	TTOC - Controle	TTOC - EM
1	150	90	140	110
2	150	40	110	50
3	150	90	120	110
4	160	60	140	60
5	150	70	150	60
6	180	100	210	140
7	180	100	180	130
8	160	110	150	100
9	140	80	130	90
10	170	90	160	100
11	160	100	150	110
12	140	80	160	100
Média	**157,5**	**84,2**	**150,0**	**96,6**
±DP	**13,6**	**19,7**	**26,3**	**27,7**

A figura V.03 ilustra os valores médios de TEG e TTOC no período de controle e sob efeito de eritromicina. O percentual de redução nos valores foi de 53% no TEG e de 64% no TTOC (Fig. V.04).

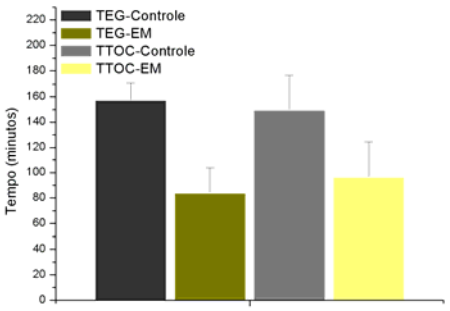


Figura V.03: Quantificação das médias e desvio padrão para TEG e TTOC, controle e sob efeito de eritromicina.

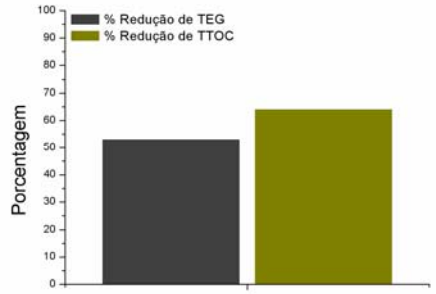


Figura V.04: Quantificação da redução do TEG e TTOC sob efeito da EM, em relação ao controle.

V.II – ATIVIDADE DE CONTRAÇÃO GÁSTRICA

A ACG foi avaliada em termos de amplitude e freqüência da atividade eletromecânica. A amplitude foi quantificada através do índice de motilidade e área sob a curva (sinal). A freqüência foi avaliada pela transformada rápida de Fourier (FFT).

A atividade elétrica gástrica (AEG) foi registrada empregando-se EGG (BIOPAC Systems, Inc) e a ACG foi coletada por meio da BAC. Desta forma, simultaneamente, foram obtidos registros eletromecânicos da motilidade gástrica durante um período de controle e sob efeito de dois fármacos: Eritromicina e Propranolol. Assim, avaliou-se a influência desses fármacos sobre a atividade eletromecânica.

V.II.I – ERITROMICINA

Nesta etapa, um dos cães foi acometido por uma infecção e foi impedido de continuar no trabalho. Portanto, onze animais fizeram parte dos experimentos. O protocolo de estudo envolvendo EM foi subdividido em quatro partes (Fig V.05), conforme perfil do efeito do fármaco: *A) controle* (15 minutos), *B) durante infusão* (5 minutos), *C) após a infusão* (5 minutos) *e D) depois* (de 5 a 35 minutos após a infusão). Todos os resultados de amplitude e freqüência do período controle foram comparados com as três fases seguintes.

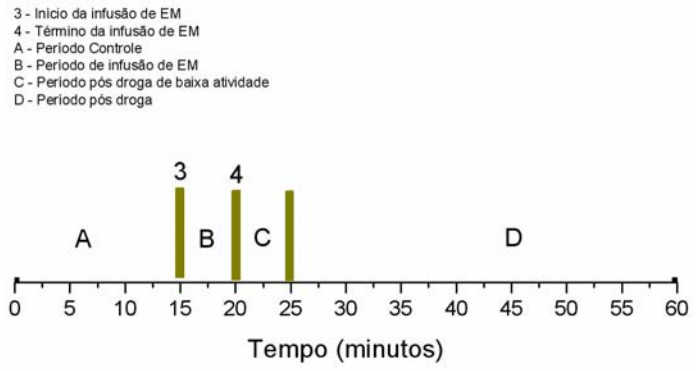


Figura V.05: Protocolo de estudo utilizando EM subdividido em períodos de acordo com o perfil do sinal.

A figura V.06 ilustra um típico exemplo dessa medida. Comparativamente, em termos de amplitude, há grande aumento no período B; significativa diminuição da intensidade no período C e um

grande aumento geral de atividade eletromecânica no período D. Em termos de freqüência houve diminuição no período B, a qual se manteve nos períodos C e D e não apresentou diferença significativa entre os períodos analisados (p<0,01).

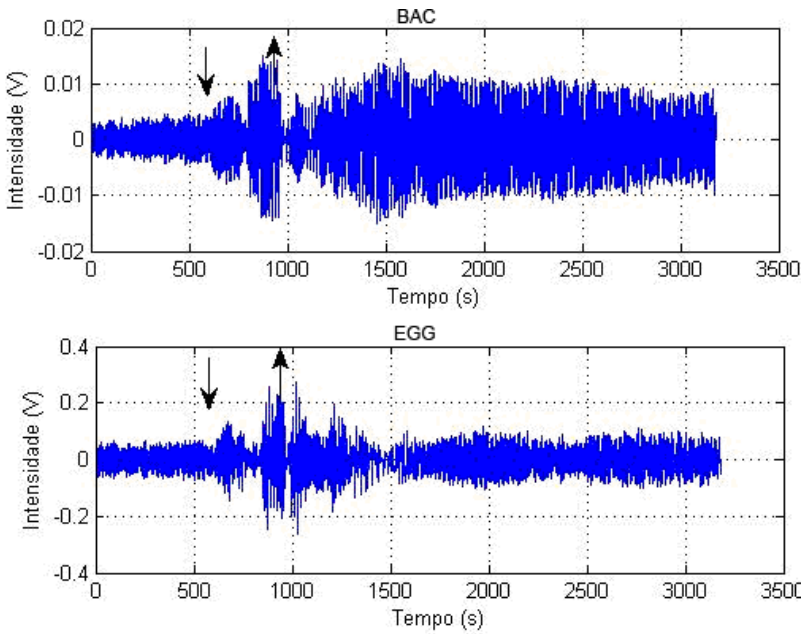


Figura V.06: Exemplo de sinal adquirido por BAC e EGG. As setas indicam o início e término da infusão de EM.

As figuras V.07 e V.08 são ampliações do sinal da figura V.06, em que se visualiza a relação temporal entre a atividade de contração e a atividade elétrica. Nota-se a excelente performance dos sinais mecânico

(BAC) e elétrico (EGG) e a forte correlação temporal entre estes sinais, que para este caso fornece um coeficiente de correlação de 0,78. Os valores médios de freqüência no período A (controle) são de 85 mHz (~5,1 cpm). Nos períodos subseqüentes, B e C, a freqüência cai para 65 mHz (~3,9 cpm), conforme ilustrado nas FFTs da figura V.09 e nas RSAs das figuras V.10-A e V.10-B.

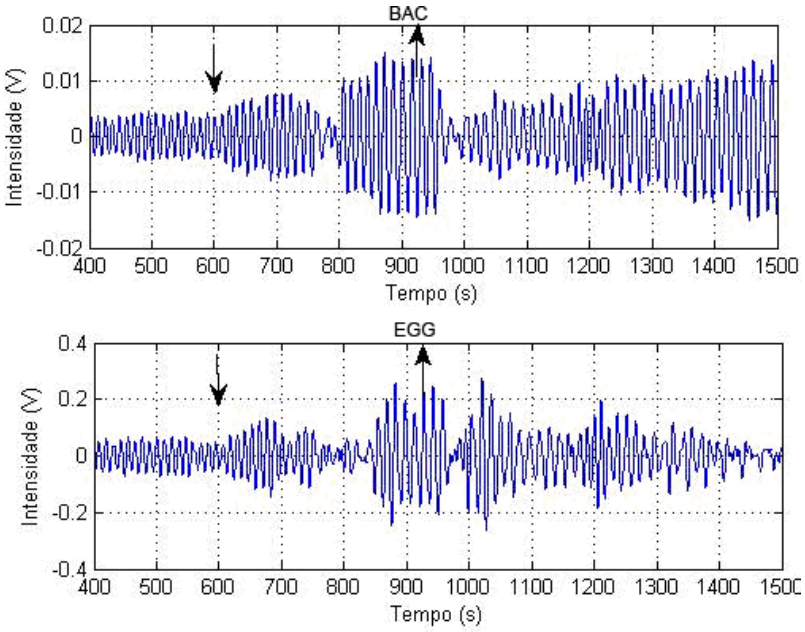


Figura V.07: Ampliação da região de infusão de EM (período B) referente aos sinais da figura V.06. As setas indicam o início e término da infusão de EM.

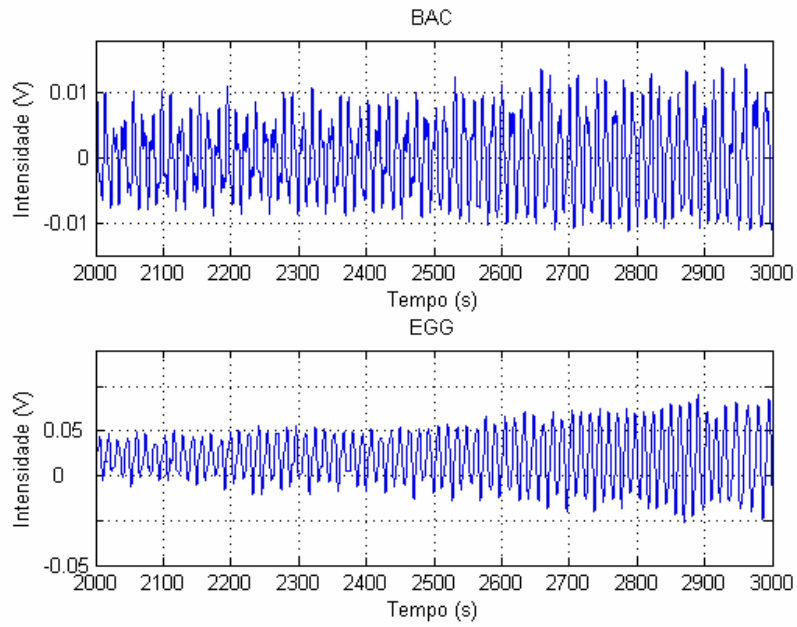


Figura V.08: Ampliação do período D, referente aos sinais da figura V.06.

Na figura V.09 o pico menor da direita de 85 mHz (~5,1 cpm) é a componente do período controle (A), o pico maior de 80 mHz (~4,8 cpm) é referente ao período D e o pico menor da esquerda - 65 mHz (~3,9 cpm) - é correspondente ao período B e C. As RSAs (Fig. V.10) ilustram essas modificações em freqüência e intensidade espectral. De forma geral, a Eritromicina provoca um aumento na amplitude e uma diminuição na freqüência, com tendência de retorno às condições de controle no final do período D.

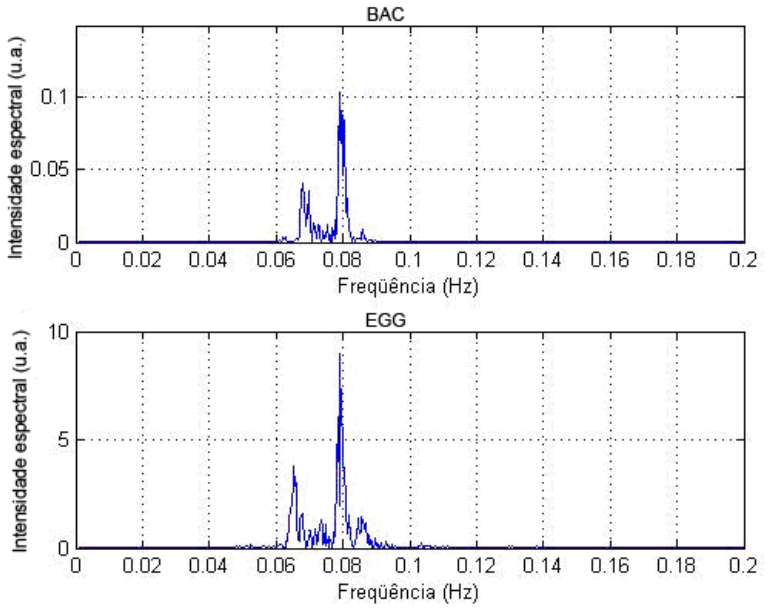


Figura V.09: FFT referente aos sinais da figura V.06.

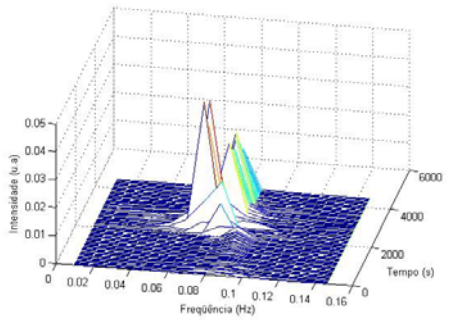


Figura V.10-A: RSA BAC referente aos sinais da figura V.06.

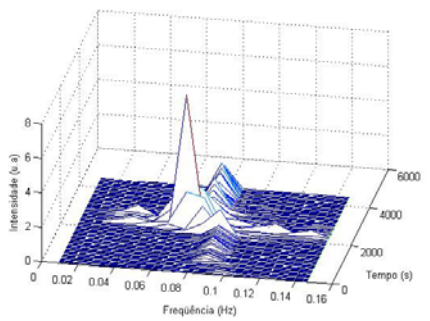


Figura V.10-B: RSA EGG referente aos sinais da figura V.06.

As figuras V.11 e V.12 são exemplos de quantificação de amplitude em termos de área sob a curva e índice de motilidade para BAC e EGG, respectivamente. Nota-se similaridade entre os dois perfis, pois ambos refletem as modificações causadas pela Eritromicina na amplitude dos

sinais. Além disso, nota-se também a forte semelhança entre as quantificações dos sinais de BAC e EGG. Em geral, o perfil do sinal em termos de amplitude é de um grande aumento, seguido de um curto período de diminuição e, posteriormente, aumento contínuo e intenso da motilidade. Salienta-se que no período D sempre é observado um período de maior intensidade com tendência de retorno para valores registrados no período de controle.

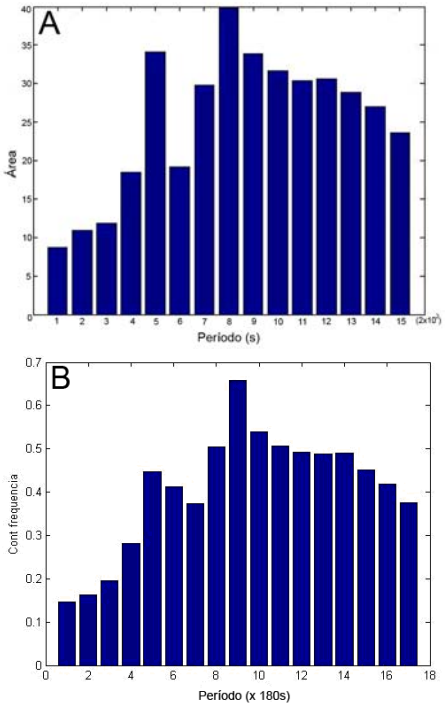


Figura V.11: Quantificação de amplitude (A) e de índice de

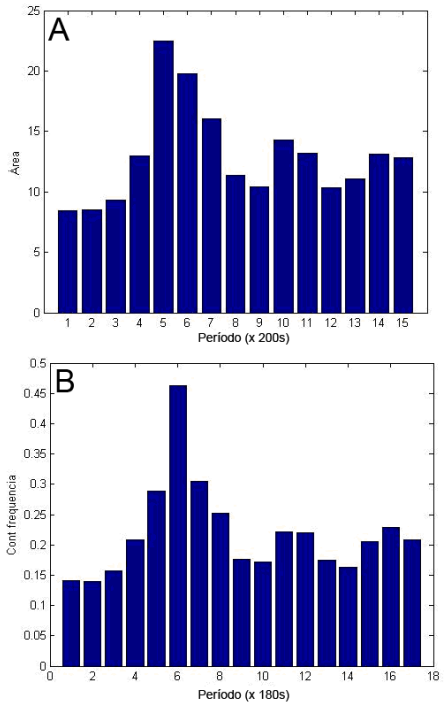


Figura V.12: Quantificação de amplitude (A) e de índice de motilidade (B) para EGG.

Apesar do perfil geral dos experimentos possuírem este comportamento descrito acima, existe uma variabilidade entre cada medida. Em outro exemplo de registro (Fig. V.13) pode-se observar com maior nitidez uma baixa freqüência que “modela” o sinal elétrico e mecânico. Essa freqüência foi registrada em todos os experimentos tanto na BAC como no EGG e possui valores entre 0,7 a 2 ciclos/minuto (10 a 30 mHz). Em alguns casos é mais discreto e nesse exemplo mais evidente. Apesar de ser observado no período de controle, esse modelamento é mais evidente após a droga.

Observa-se também a excelente correlação temporal (“correlação cruzada”) entre esses sinais elétricos e mecânicos, que neste caso fornece um coeficiente de correlação de 0,92. O coeficiente de correlação temporal médio foi de 0.72±0.25 para o período A; 0.64±0.29 para o período B; 0.79±0.18 para o período C e 0.76±0.20 para o período D.

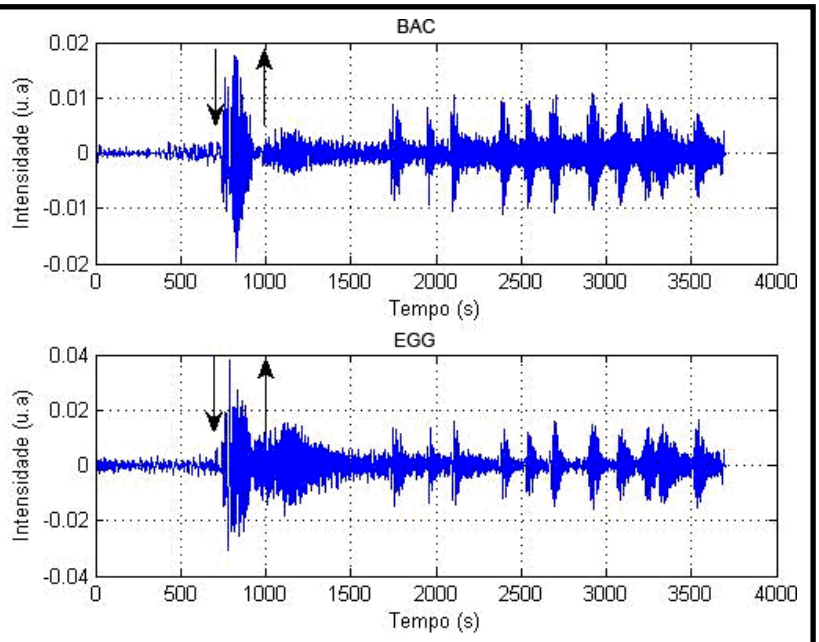


Figura V.13: Exemplo de sinal adquirido por BAC e EGG. As setas indicam o início e término da infusão de EM.

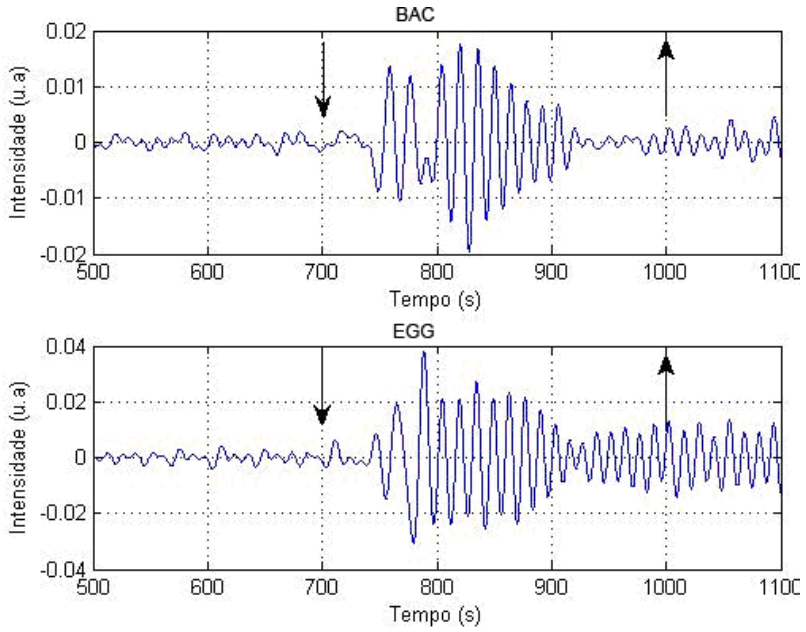


Figura V.14: Ampliação da região de infusão de EM (período B) referente aos sinais da figura V.12. As setas indicam o início e término da infusão de EM.

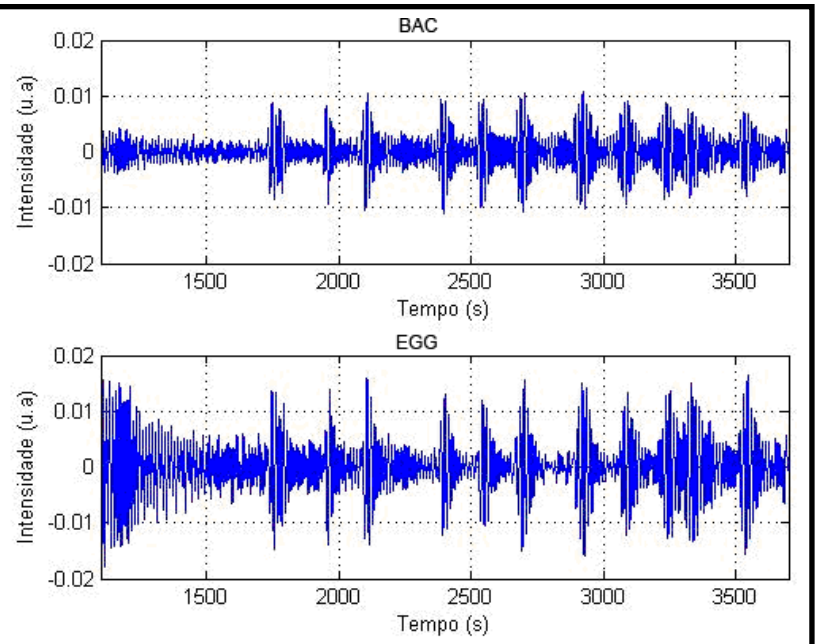


Figura V.15: Ampliação da região que corresponde aos períodos C e D, referente aos sinais da figura V.13.

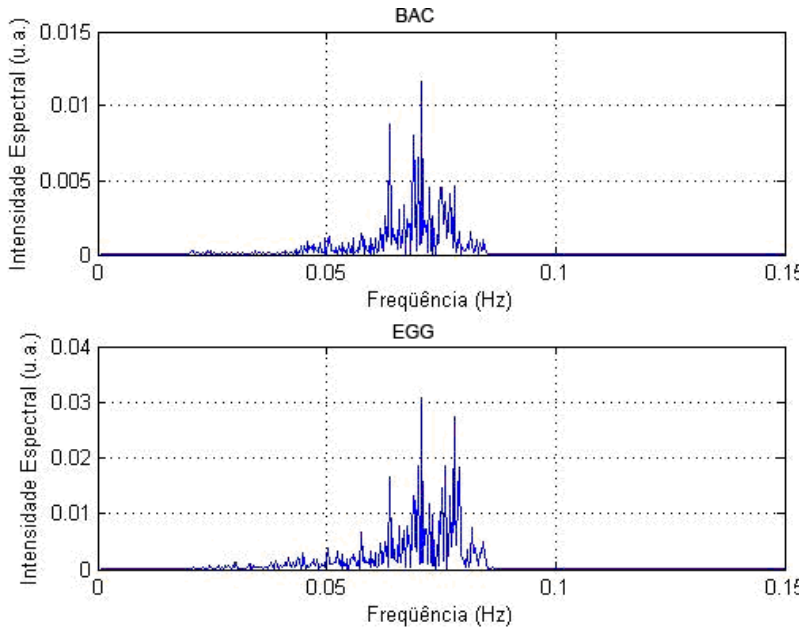


Figura V.16: FFT referente aos sinais da figura V.13.

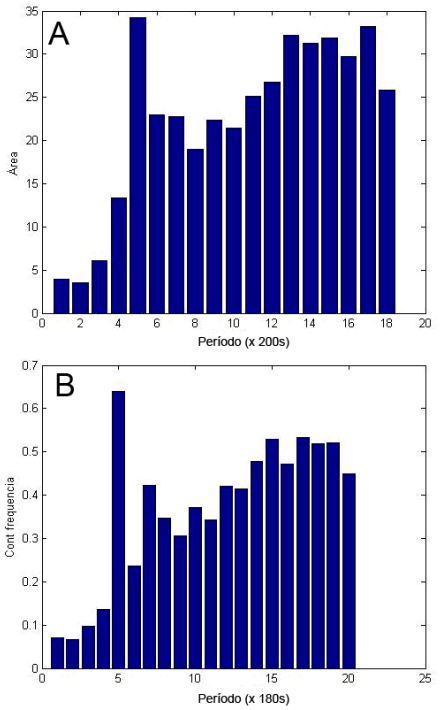


Figura V.17: Quantificação de amplitude (A) e de índice de motilidade (B) para BAC para sinais

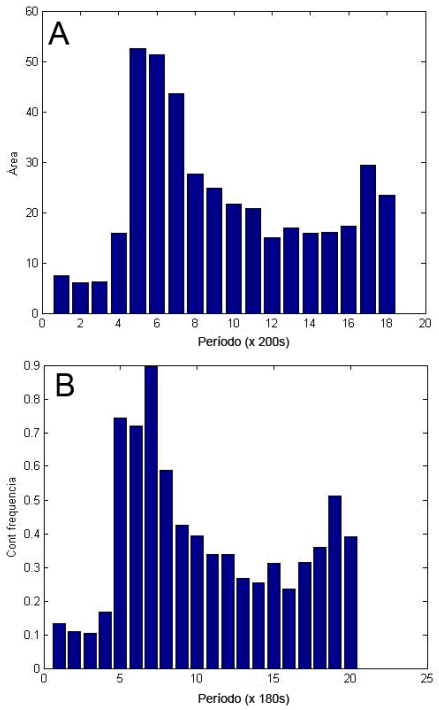


Figura V.18: Quantificação de amplitude (A) e de índice de motilidade (B) para EGG para sinais

Nas figuras V.19 e V.20 estão ilustrados os resultados gerais (valores médios) em termos de amplitude (área), enquanto nas figuras V.21 e V.22 são apresentados os valores de índice de motilidade, respectivamente para BAC e EGG. A distribuição dos dados está nas tabelas V.II e V.III, respectivamente para amplitude e índice de motilidade. É nítida a semelhança geral entre as duas técnicas, isto é, entre os resultados da ACG e AEG, tanto para a quantificação de área quanto para o índice de motilidade. O aumento na amplitude dos sinais mecânicos e elétricos nos períodos B e D é significantemente maior que o controle ($p<0.01$). O período C não apresenta aumento significativo ($p>0.1$). Não existe diferença significativa entre os resultados médios obtidos pelas duas técnicas quando comparadas entre si em cada fase ($p>0.5$).

Tabela V.II: Distribuição dos dados de amplitude, quantificada pela área sob a curva, pelas técnicas BAC e EGG.
A – controle; B – durante infusão de EM; C – intervalo de 5 min após a infusão;
D – de 5 a 35 minutos após a infusão

CÃO	A		B		C		D	
	BAC	EGG	BAC	EGG	BAC	EGG	BAC	EGG
1	3	6	20	17	8	12	22	35
2	7	5	21	35	18	5	50	35
3	2	6	25	50	17	20	28	30
4	1.1	11	2.5	30	1	20	3	13
5	11	5	20	20	10	8	30	30
6	9	6	12	20	11	21	20	30
7	7	6	20	17	12	10	23	13
8	2	3	3	28	1	15	65	7
9	10	15	24	38	5	15	27	60
10	4	6	8	20	3.5	4	11	16
11	7	14	10	15	5	6	17	30
Média	**5.7**	**7.5**	**15.0**	**26.3**	**8.3**	**12.3**	**26.9**	**27.1**
±DP	**3.4**	**3.9**	**8.2**	**11.0**	**5.8**	**6.2**	**17.3**	**14.7**

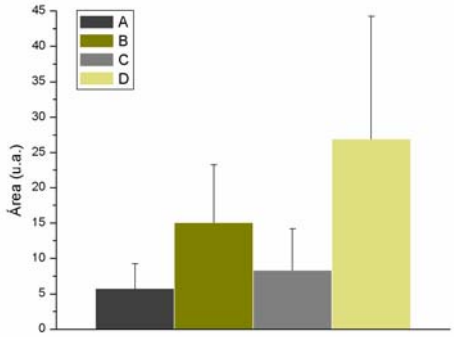


Figura V.19: Quantificação media de amplitude por período para BAC. As letras A, B, C e D correspondem aos períodos definidos no protocolo de estudo ilustrado pela figura V.05.

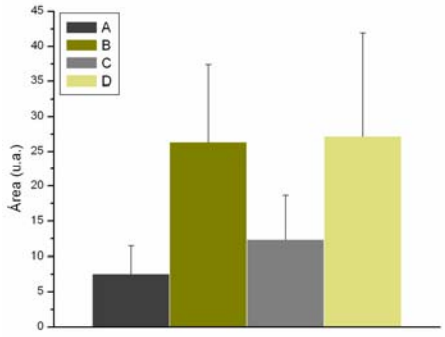


Figura V.20: Quantificação media de amplitude por período para EGG. As letras A, B, C e D correspondem aos períodos definidos no protocolo de estudo ilustrado pela figura V.05.

Tabela V.III: Distribuição dos dados de índice de motilidade pelas técnicas BAC e EGG.
A – controle; B – durante infusão de EM; C – intervalo de 5 min após a infusão;
D – de 5 a 35 minutos após a infusão

CÃO	A		B		C		D	
	BAC	EGG	BAC	EGG	BAC	EGG	BAC	EGG
1	0.05	0.1	0.3	0.3	0.1	0.2	0.35	0.6
2	0.1	0.08	0.4	0.6	0.32	0.15	0.8	0.6
3	0.03	0.09	0.4	0.8	0.25	0.25	0.45	0.4
4	0.055	0.4	0.08	1	0.06	0.8	0.1	0.6
5	0.17	0.1	0.3	0.3	0.17	0.12	0.48	0.5
6	0.12	0.1	0.2	0.32	0.18	0.4	0.35	0.6
7	0.12	0.13	0.3	0.35	0.2	0.2	0.38	0.25
8	0.15	0.25	0.16	0.17	0.13	0.13	0.3	0.4
9	0.15	0.23	0.35	0.6	0.9	0.25	0.4	1
10	0.3	0.2	0.12	0.7	0.03	0.1	0.38	0.35
11	0.12	0.22	0.2	0.25	0.06	0.11	0.3	0.55
Média	0.12	0.17	0.25	0.49	0.21	0.24	0.39	0.53
±DP	0.07	0.09	0.11	0.26	0.24	0.20	0.16	0.19

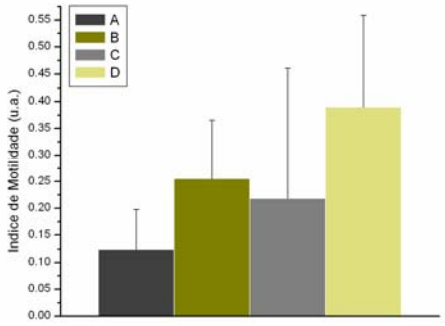


Figura V.21: Quantificação media de índice de motilidade por período para BAC. As letras A, B, C e D correspondem aos períodos definidos no protocolo de estudo ilustrado pela figura V.05.

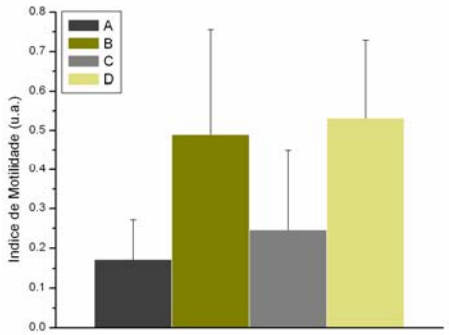


Figura V.22: Quantificação media de índice de motilidade por período para EGG. As letras A, B, C e D correspondem aos períodos definidos no protocolo de estudo ilustrado pela figura V.05.

Em termos da freqüência dos sinais, observou-se (Fig. V.23 e V.24) que quando comparado ao controle, em todas as três fases posteriores houve uma diminuição significativa ($p<0.01$) tanto nos valores da ACG como nos da AEG. A freqüência diminui, tendo um valor mínimo no período C, recuperando ligeiramente no período D, indicando retorno aos valores de controle. Relacionando com as modificações de amplitude, isso corresponde à tendência de diminuição da amplitude, voltando para valores basais. A distribuição dos dados está na tabela V.IV. Além disso, pode-se verificar a forte correspondência em freqüência entre a ACG e AEG (Fig. V.23 - V.24). A comparação entre cada fase da ACG e AEG não apresenta diferença significativa ($p>0.5$).

Em todos os registros, durante o período D, ocorreu um curto período de máxima intensidade do sinal. Geralmente, esse período ocorreu em 35±15 minutos para a BAC e 30±18 minutos para EGG. No entanto, não há diferença significativa entre esses valores ($p>0.5$).

Tabela V.IV: Distribuição dos dados de freqüência pelas técnicas BAC e EGG. Valores expressos em *m*Hz.
A – controle; B – durante infusão de EM; C – intervalo de 5 min após a infusão;
D – de 5 a 35 minutos após a infusão

CÃO	A		B		C		D	
	BAC	**EGG**	**BAC**	**EGG**	**BAC**	**EGG**	**BAC**	**EGG**
1	91	91	85	83	85	84	87	87
2	92	91	80	80	78	78	68	69
3	86.5	85.5	70	70	85	85	78	78
4	73	73	75	70	62	65	58	58
5	73	72	68	67	65	66	63	63
6	74	74	70	70	70	70	70	70
7	93	94	72	68	68	65	79	79
8	77	77	73	73	70	70	72	71
9	90	90	65	65	60	60	73	73
10	81	81	72	76	83	83	70	76
11	86	89	80	83	60	63	82.5	82.5
Média	**83.3**	**83.4**	**73.6**	**73.1**	**71.4**	**71.7**	**72.7**	**73.3**
±DP	**7.9**	**8.2**	**5.9**	**6.4**	**9.7**	**9.1**	**8.4**	**8.4**

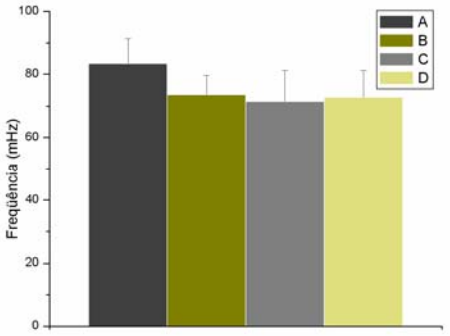


Figura V.23: Quantificação media de freqüência por período para BAC. As letras A, B, C e D correspondem aos períodos definidos no protocolo de estudo ilustrado pela figura V.05.

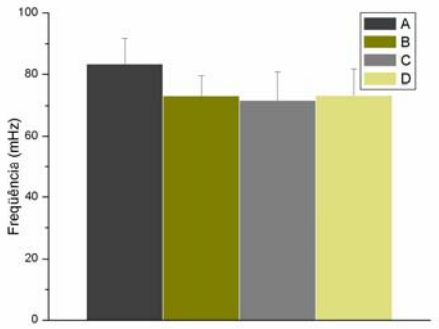


Figura V.24: Quantificação media de freqüência por período para EGG. As letras A, B, C e D correspondem aos períodos definidos no protocolo de estudo ilustrado pela figura V.05.

V.II.II – PROPRANOLOL

As análises foram realizadas em termos de amplitude (área e índice de motilidade) e freqüência comparando o período de controle (E) com os períodos após a infusão de propranolol (período F) e após infusão de isoproterenol (período G). Cada período teve duração de 15 minutos aproximadamente e o protocolo geral do estudo está representado na figura V.25.

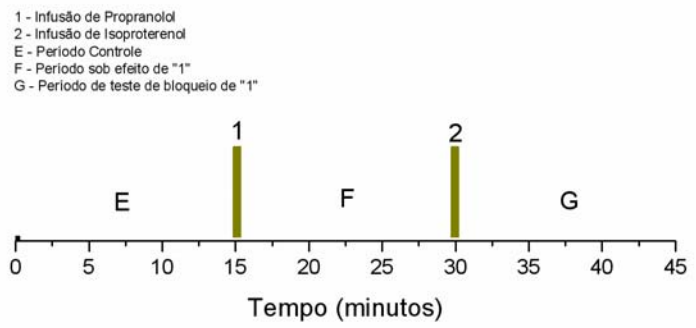


Figura V.25: Protocolo de estudo utilizando Propanolol e Isoproterenol.

A figura V.26 ilustra um típico exemplo dessas medidas. Em termos gerais, o propranolol aumenta a amplitude e simultaneamente diminui a freqüência (Fig. V.27). Esse comportamento é também visualizado nas RSAs das figuras V.28 e V.29. Porém, o aumento na intensidade do sinal da ACG e AEG (área e índice de motilidade) não é tão nítido como na EM, possuindo uma característica errática e proporcionando um alto desvio padrão. Conseqüentemente, diminui o nível de significância entre os

períodos E e F e E e G para p<0.1. Isto mostra que houve um aumento considerável na amplitude, porém não uniforme e de baixa proporção, quando comparado com os dados obtidos por EM. A razão entre o aumento percentual de atividade devido a Eritromicina pelo Propranolol foi de 2,4 para BAC e 2,6 para o EGG.

Isto mostra que o efeito na amplitude devido a eritromicina foi mais do que o dobro do efeito provocado pelo propranolol. Figuras V.30 e V.31 ilustram os valores médios da área sob a curva, enquanto as figuras V.32 e V.33 apresentam os resultados do índice de motilidade obtidos para BAC e EGG, respectivamente. Não se observa variação na ACG e AEG entre o período F e G (p>0.5). Em termos de semelhança temporal dos sinais, o coeficiente de correlação médio foi de 0.73±0.22 e 0.76±0.20, para os períodos E e F, respectivamente.

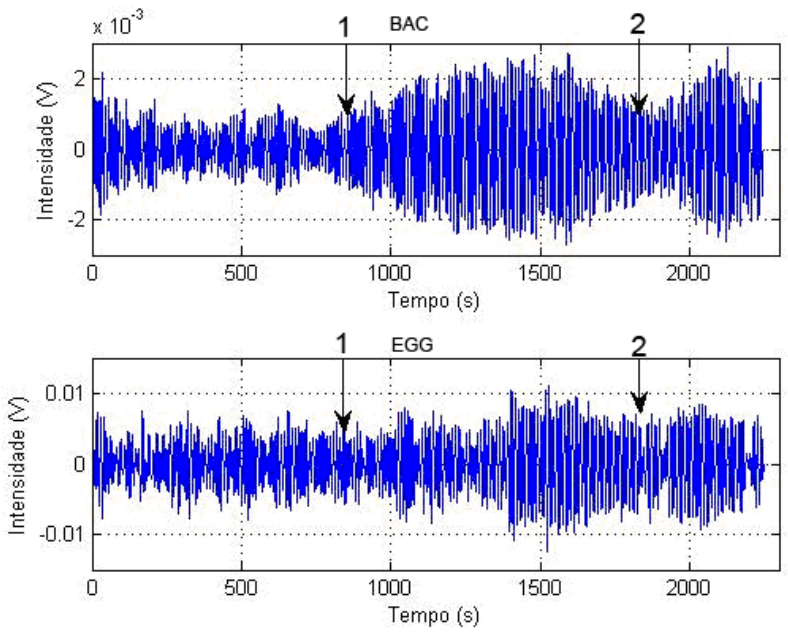


Figura V.26: Exemplo de sinal adquirido por BAC e EGG. A seta 1 indica a aplicação de propranolol e a seta 2 indica a aplicação de isoproterenol.

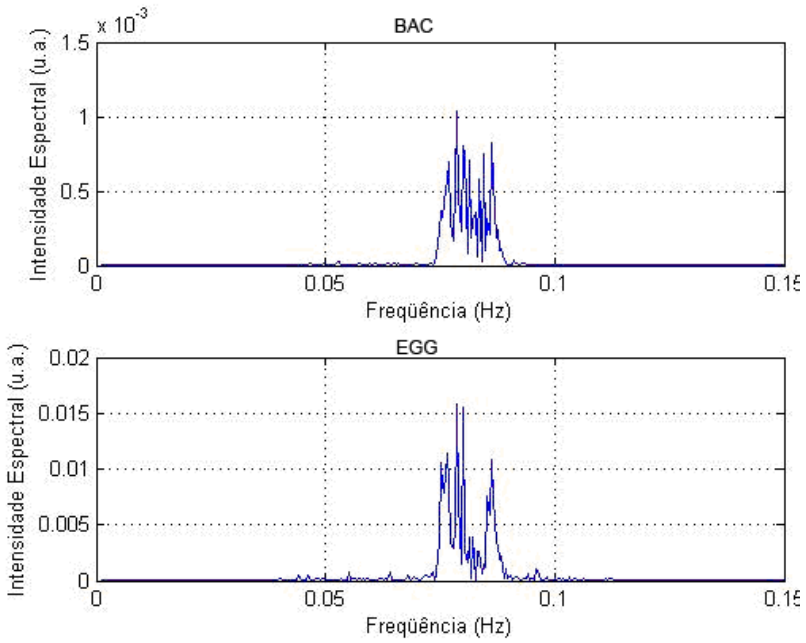


Figura V.27: FFT referente aos sinais da figura V.26.

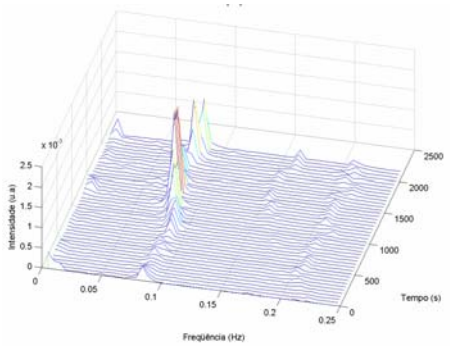


Figura V.28: RSA BAC referente aos sinais da figura V.26.

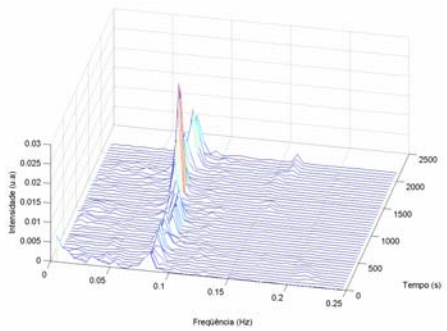


Figura V.29: RSA EGG referente aos sinais da figura V.26.

Tabela V.V: Distribuição dos dados de amplitude, quantificada pela área sob a curva, pelas técnicas BAC e EGG.
E – controle; F – após propranolol (15 minutos); G – após isoproterenol (15 minutos)

CÃO	E		F		G	
	BAC	EGG	BAC	EGG	BAC	EGG
1	3	6	7	5	9	9
2	7	5	8	7	10	9
3	2	6	4	9	2.5	7
4	1.1	11	3.5	15	3	13
5	11	5	29	35	23	28
6	9	6	10	12	13	15
7	7	6	4	5	8	8
8	2	3	32	28	18	15
9	4	13	5	14	6	9
10	13	23	13	26	12	26
11	1.8	4	4	5	3.5	5
12	1.2	9	1.5	11	2.5	4
Média	**5.2**	**8.1**	**10.1**	**14.3**	**9.2**	**12.3**
±DP	**4.1**	**5.5**	**10.1**	**10.0**	**6.5**	**7.7**

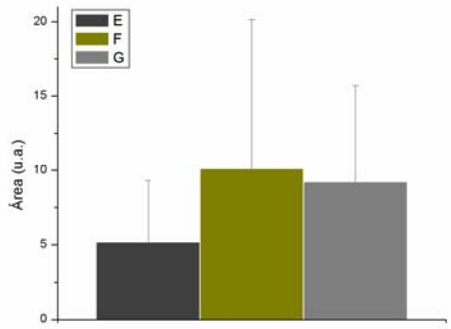


Figura V.30: Quantificação média de amplitude por período para BAC. As letras E, F e G correspondem aos períodos definidos no protocolo de estudo ilustrado pela figura V.25.

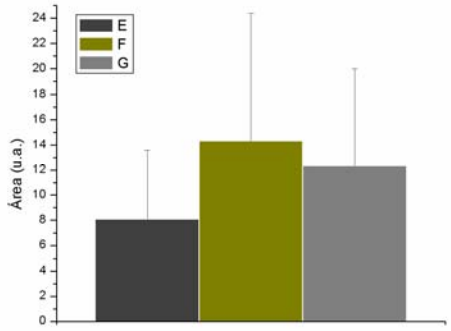


Figura V.31: Quantificação média de amplitude por período para EGG. As letras E, F e G correspondem aos períodos definidos no protocolo de estudo ilustrado pela figura V.25.

Tabela V.VI: Distribuição dos dados de índice de motilidade pelas técnicas BAC e EGG
E – controle; F – após propranolol (15 minutos); G – após isoproterenol (15 minutos)

CÃO	E		F		G	
	BAC	EGG	BAC	EGG	BAC	EGG
1	0.05	0.1	0.09	0.09	0.14	0.18
2	0.1	0.08	0.11	0.12	0.18	0.16
3	0.03	0.09	0.06	0.15	0.04	0.1
4	0.055	0.4	0.12	0.55	0.1	0.55
5	0.17	0.1	0.23	0.15	0.22	0.16
6	0.12	0.1	0.17	0.23	0.23	0.27
7	0.12	0.13	0.08	0.1	0.15	0.16
8	0.15	0.25	0.2	0.2	0.12	0.1
9	0.15	0.4	0.18	0.45	0.23	0.35
10	0.25	0.39	0.25	0.4	0.23	0.45
11	0.08	0.08	0.13	0.14	0.12	0.12
12	0.02	0.15	0.025	0.2	0.04	0.08
Média	**0.10**	**0.18**	**0.13**	**0.23**	**0.13**	**0.22**
±DP	**0.06**	**0.13**	**0.06**	**0.15**	**0.06**	**0.15**

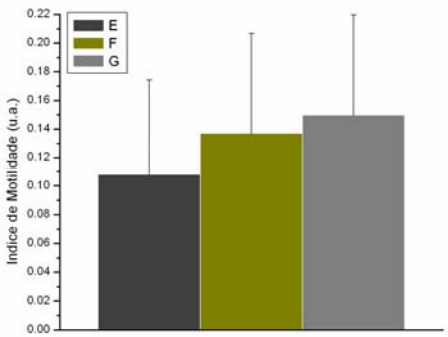


Figura V.32: Quantificação média de índice de motilidade por período para BAC. As letras E, F e G correspondem aos períodos definidos no protocolo de estudo ilustrado pela figura V.25.

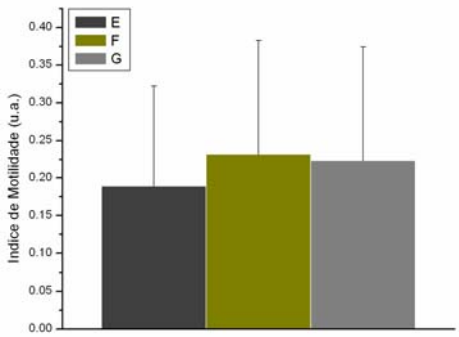


Figura V.33: Quantificação média de índice de motilidade por período para EGG. As letras E, F e G correspondem aos períodos definidos no protocolo de estudo ilustrado pela figura V.25.

A quantificação em freqüência está ilustrada nas figuras V.34 e V.35 (BAC e EGG, respectivamente). A distribuição dos dados está na tabela V.VII. Houve uma significativa diminuição no valor médio da freqüência ($p<0.01$) entre controle e drogas. Na comparação entre as drogas (propranolol e isoproterenol) não houve mudança ($p>0.5$). Observe a grande semelhança nos valores de freqüência medidos pelas duas técnicas.

A razão do efeito sobre a freqüência causado pelo propranolol em relação ao efeito da EM, resulta em 0.91, demonstrando que a EM exibe maior efeito na redução da freqüência. O efeito não difere entre as técnicas BAC e EGG.

Tabela V.VII: Distribuição dos dados de freqüência pelas técnicas BAC e EGG. Valores expressos em *m*Hz.
E – controle; F – após propranolol (15 minutos); G – após isoproterenol (15 minutos)

CÃO	E		F		G	
	BAC	**EGG**	**BAC**	**EGG**	**BAC**	**EGG**
1	91	91	87.5	88	85.5	85.5
2	92	91	86	87	81	83
3	86.5	85.5	78	78	82	81
4	73	73	68	68	70	70
5	73	72	73	72	73	72
6	74	74	73	73	73	73
7	93	94	90	90	86	88
8	77	77	74	75	75	75
9	77	77	69	69	69	69
10	77	76	74	74	74	74
11	77	77	71	72	67	70
12	76	78	76	78	76	78
Média	**80.5**	**80.4**	**76.6**	**77**	**75.9**	**76.5**
±DP	**7.7**	**7.7**	**7.3**	**7.4**	**6.3**	**6.4**

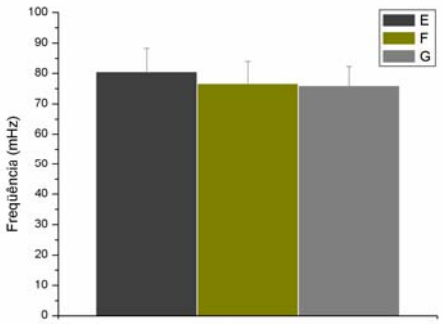


Figura V.34: Quantificação média de freqüência por período para BAC. As letras E, F e G correspondem aos períodos definidos no protocolo de estudo ilustrado pela figura V.25.

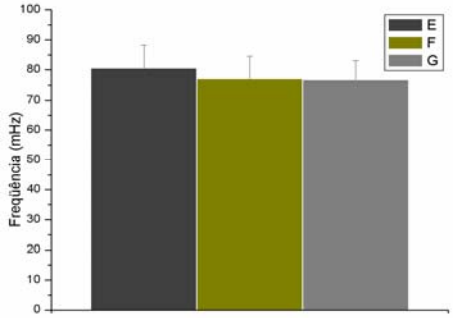


Figura V.35: Quantificação média de freqüência por período para EGG. As letras E, F e G correspondem aos períodos definidos no protocolo de estudo ilustrado pela figura V.25.

V.III – Outras Abordagens Preliminares

No intuito de ilustrar novos experimentos ou de propor outras abordagens instrumentais e ainda avaliar efeitos de outros fármacos, foram realizados dois procedimentos experimentais distintos.

Visando enriquecer os dados experimentais, empregou-se além da BAC e EGG, um sistema de manometria com sonda balonada para monitoramento da pressão intragástrica. Esse procedimento foi realizado em dois animais, sendo que nestes casos as medidas foram seqüenciais: controle, propranolol, isoproterenol e eritromicina. A figura V.36 ilustra os três sinais.

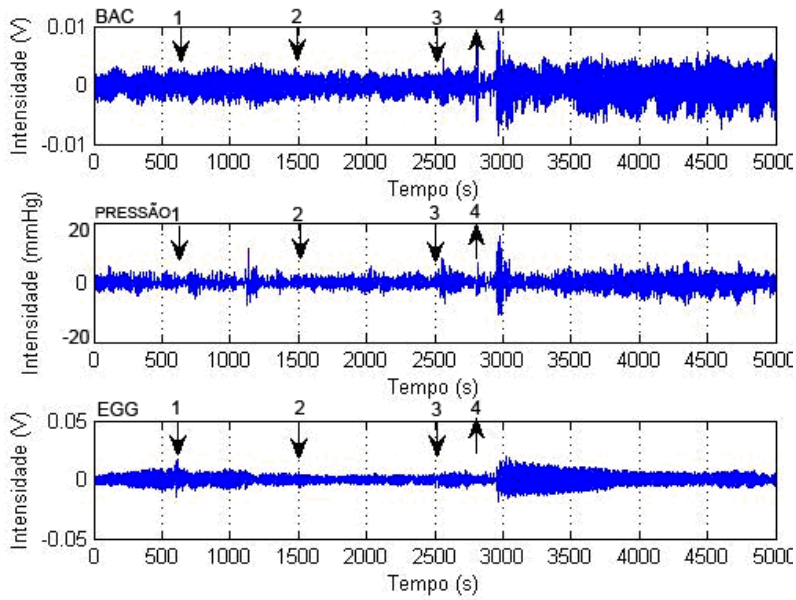


Figura V.36: ACG pelas técnicas de BAC, Pressão e EGG.
Seta 1 – Infusão de Propranolol; Seta 2 – Infusão de Isoproterenol;
Seta 3 – Início da infusão de EM; Seta 4 – Término da infusão de EM

Na figura V.37 está ilustrado o período inicial de controle com propranolol e isoproterenol. A figura V.38 ilustra o período de infusão da eritromicina, enquanto na figura V.39 observa-se a ampliação do mesmo período. Nota-se uma forte semelhança entre os três registros.

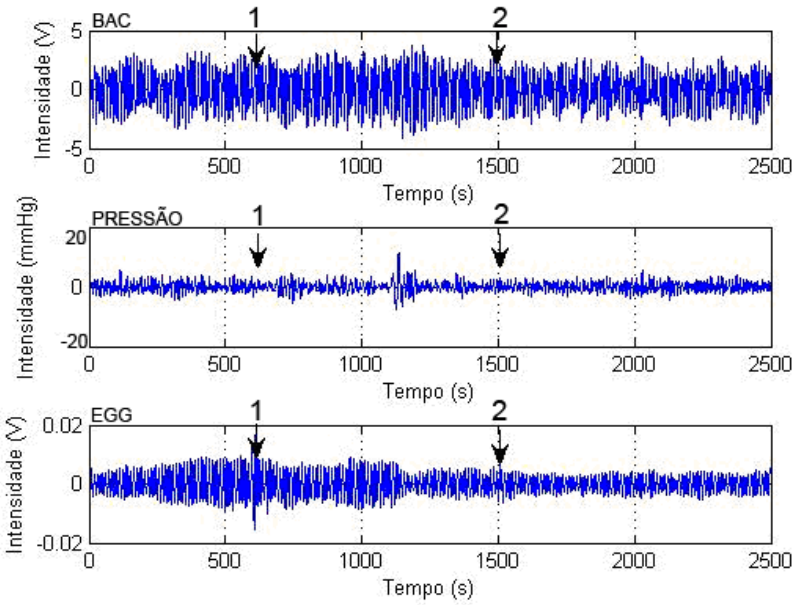


Figura V.37: Ampliação dos períodos F e G da figura V.36.
Seta 1 – Infusão de Propranolol; Seta 2 – Infusão de Isoproterenol;

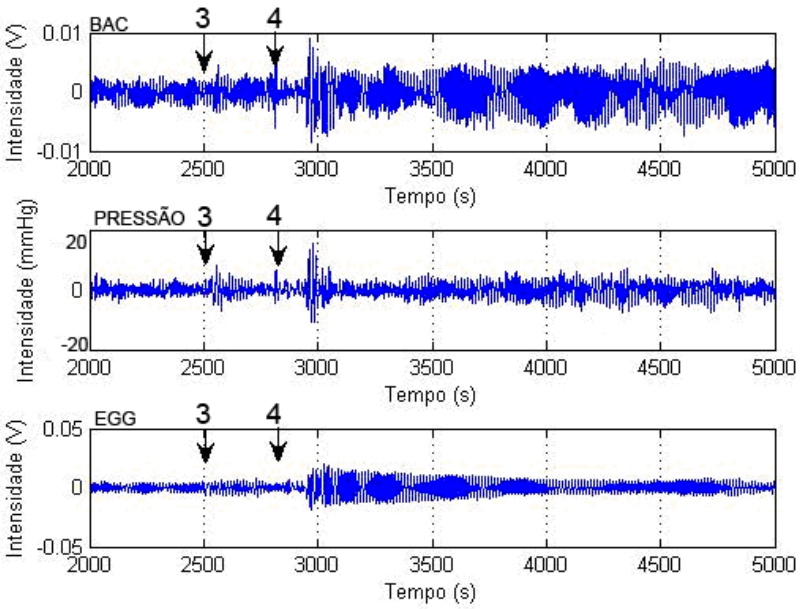


Figura V.38: Ampliação dos períodos B, C e D da figura V.36.
Seta 3 – Início da infusão de EM; Seta 4 – Término da infusão de EM.

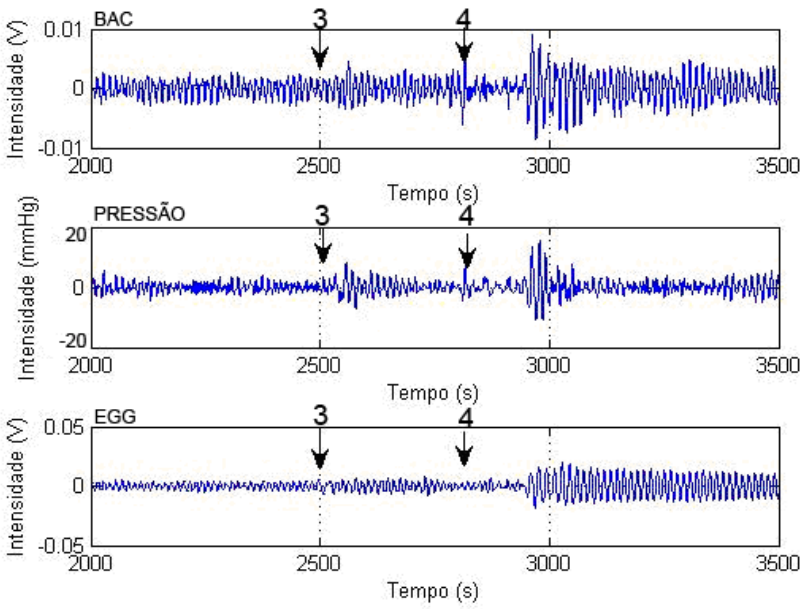


Figura V.39: Maior ampliação da figura V.36; períodos B e C.
Seta 3 – Início da infusão de EM; Seta 4 – Término da infusão de EM.

Um outro experimento foi envolver atropina antes da infusão de eritromicina. O objetivo foi bloquear receptores de acetilcolina e consequentemente evitar os efeitos naturais de controle do SNA e os efeitos provenientes da estimulação da eritromicina em receptores da motilina pré-sinápticos, observando então, apenas o efeito da eritromicina devido a ocupação dos receptores da motilina localizados na musculatura lisa gastrintestinal. As figuras V.40 e V.41 ilustram os dois experimentos realizados com diferentes animais, quando foram empregados 0,5 ml (0,125mg) e 1,0 ml (0,25mg) de atropina, respectivamente. Apesar de serem experimentos iniciais, é nítida a diferença entre esses sinais, principalmente para as medidas mecânicas (BAC). O aumento da dose de

atropina provocou uma diminuição na resposta da eritromicina no período B e um retardo no efeito máximo, período D. Quando comparados com os sinais apresentados pelas figuras V.06 e V.13 (sem atropina) fica ainda mais evidente a diminuição dos efeitos motores provocados pela eritromicina quando ocorreu atropinização prévia.

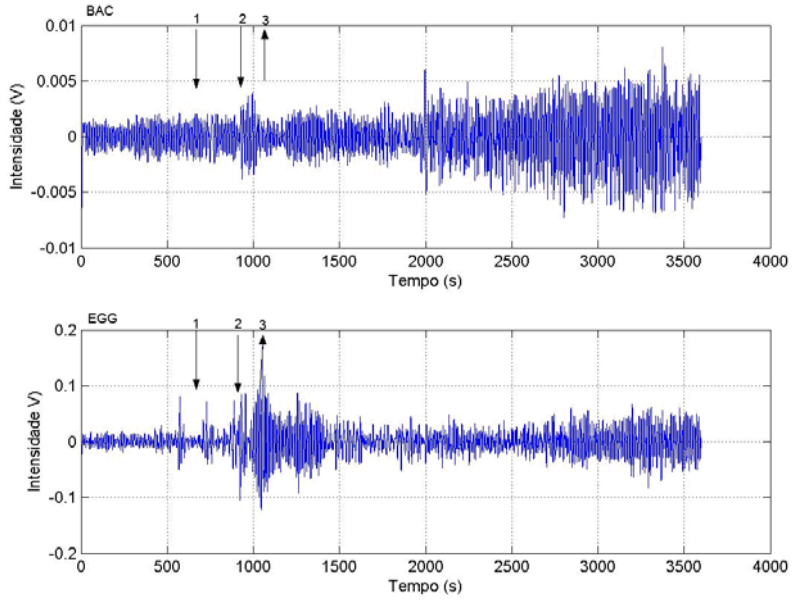


Figura V.40: ACG pelas técnicas de BAC e EGG.
Seta 1 – Infusão de Atropina; Seta 2 – Início da infusão de EM;
Seta 3 – Término da infusão de EM.

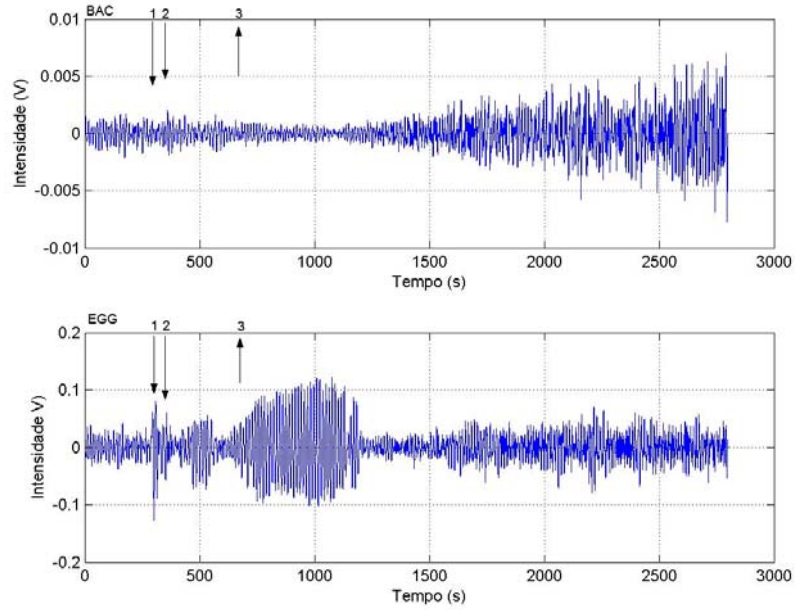


Figura V.41: ACG pelas técnicas de BAC e EGG.
Seta 1 – Infusão de Atropina; Seta 2 – Início da infusão de EM;
Seta 3 – Término da infusão de EM.

VI – DISCUSSÃO

A atividade motora do trato digestório é a grande facilitadora do processo de trituração e propulsão do alimento com a finalidade de absorção de nutrientes (Gregensen, 2003). Disfunções dessa atividade podem provocar graves prejuízos ao indivíduo. Investigar o comportamento da motilidade gástrica em situações que não alterem a fisiologia normal do órgão e sob interferência de drogas de interesse clínico é de extrema importância, principalmente empregando técnicas não invasivas.

Pacientes em estado pós-cirúrgico, estado de emergência, com ventilação mecânica e administração intragástrica de alimentos e medicamentos podem apresentar gastroparesia, disfunção que agrava o quadro geral do indivíduo (Janssens et al., 1990; Tack et al., 1992; Mutlu et al., 2001; Ritz et al., 2005).

As manifestações de hipomotilidade gastrintestinal são comuns em mais da metade dos pacientes com parada respiratória. A ventilação mecânica prejudica a motilidade gastrintestinal (Dive et al., 1994) e esvaziamento gástrico (Heyland et al., 1996). Além disso, muitos pacientes com hipomotilidade são intolerantes a nutrição enteral. Essa anormalidade também pode favorecer o refluxo duodeno-gástrico e colonização do estômago por bactérias entéricas (Dive et al., 1994).

Montejo (1999) investigou a freqüência de complicações gastrintestinais não hemorrágicas em 400 pacientes de UTI com alimentação enteral e quase dois terços deles desenvolveram algum tipo de complicação. Esses pacientes permanecem mais tempo nas UTIs (20,6±1,2 dias vs. 15,2±1,3 dias) e apresentam maior índice de mortalidade (31% vs. 16%) quando comparado com o grupo sem complicações gastrintestinais.

Esses fatos demonstram a constante necessidade de desenvolvimento ou aperfeiçoamento de terapias para tratamento dessas complicações nesses pacientes.

Drogas de atividade efetiva e bem definida como a eritromicina (antibiótico) e propranolol (anti-arritmico) têm sido estudadas nos últimos vinte anos quanto a novas abordagens de uso, por exibirem efeitos secundários importantes na atividade motora do TGI.

A eritromicina já foi largamente estudada e possui comprovada atividade no aumento da atividade motora e do esvaziamento do TGI. Abordagens recentes estudam a relação de efeitos efetivos com baixas doses (Medhus et al., 2000; Ritz et al., 2005) e o uso de substâncias análogas ao sítio ativo da droga, ou então motilinas sintéticas, e que não exibem atividade antibiótica (Okano, 1996). Esses últimos, além de reproduzirem a atividade, geralmente são mais potentes. O fator limitante de sua aplicação ainda é o alto custo da terapia, considerando que boa parte dessas substâncias ainda são experimentais.

O efeito de bloqueadores β sobre a atividade motora é um pouco mais sutil, porém proporciona importantes resultados. Em seu trabalho, Ahluwalia et al. (1994), usando um bloqueador β1 específico (atenolol), discutiram que a inibição desses receptores aumentou a força de tração aboral associada com as contrações no intestino delgado, favorecendo a propulsão. Em outro trabalho, McIntyre et al. (1992), demonstraram que propranolol (160 *m*g) acelerou o trânsito orocecal e duodenocecal em voluntários saudáveis. Ainda que alguns resultados já comprovem a eficácia dessas drogas como pró-cinéticos, ainda são necessários outros testes para ratificar a implementação de uma possível terapia, considerando principalmente o uso de doses baixas que não afetem drasticamente o funcionamento cardíaco normal.

Também é importante evidenciar a necessidade de utilizar novas técnicas, que proporcionem mensurações mais precisas e em condições menos estressantes, não invasivas e livres de radiação ionizante. Além disso, deve-se destacar o uso de modelos experimentais mais semelhantes ao homem, como é o caso do cão. Os cães, além de grandes semelhanças de seu trato digestório com o do homem, são animais de porte médio e suas dimensões permitem que os testes realizados nesse modelo animal utilizando novas instrumentações possam vir a ser extrapolados para clínica humana. Outra evidência é a grande quantidade de trabalhos já realizados com esse modelo, o que

propicia abundância de informações nos temas abordados, facilitando novos estudos.

Novas técnicas, como a BAC, foram oportunamente desenvolvidas para possibilitar o estudo alguns parâmetros de funcionamento do TGI em condições naturais e outros relacionados à disfunções do aparelho digestório. Outro enfoque para essa técnica, permeia sua utilização para avaliar efeitos colaterais de drogas no TGI.

Atualmente, técnicas como a eletrogastrografia são razoavelmente eficientes no exame da atividade de contração gástrica. O EGG tem como principal vantagem ser não-invasivo e poder ser associado a outras técnicas sem prejuízo. Porém, o registro reflete principalmente a atividade elétrica de controle (ondas lentas) e as contrações são reflexos da atividade elétrica de resposta. Portanto, nem todas as ondas do traçado podem traduzir uma contração mecânica.

Sobre o sinal registrado pelo EGG, há consenso no que concerne a sua configuração senoidal , bem como sua freqüência, que no cão é cerca de 4,5 ciclos por minuto (cpm). Porém, o significado clínico e fisiológico das alterações na amplitude do EGG ainda não está completamente esclarecido (Quigley, 1996).

Nesse sentido, medidas diretas da ACG empregando técnicas simples, de fácil manuseio, baixo custo e que apresentem portabilidade são imprescindíveis e, nesse contexto, a BAC apresenta-se como uma ferramenta promissora. Salienta-se ainda que a investigação simultânea

entre a atividade elétrica e mecânica em muito pode contribuir para subsidiar o melhor entendimento de parâmetros fisiológicos do TGI.

Em contraposição ao EGG, outra característica importante da BAC é sua versatilidade, pois também possibilita a avaliação do esvaziamento gástrico e tempo de trânsito orocecal, que são importantes parâmetros empregados rotineiramente na prática clínica. Existe uma relação direta entre modificações na ACG e esvaziamento gástrico (EG) tornando interessante a mensuração desses dois parâmetros pela mesma técnica.

O atraso no esvaziamento gástrico é um sintoma grave e razoavelmente freqüente, que geralmente acomete indivíduos diabéticos (propensos a desenvolver gastroparesia), mas também casos de pós-operatório e internação em terapia intensiva. O uso de pró-cinéticos como a eritromicina pode ser apresentado como uma terapia eficiente para melhorar a qualidade de vida de um indivíduo afetado (Mutlu et al., 2001).

Otterson & Sarna (1990) já observavam que a eritromicina estimulava a atividade motora coordenada entre antro e duodeno. Mathis & Malbert (1998), com uma dose de 10 *m*g/kg de EM em porcas, demonstraram o aumento do fluxo transpilórico, diminuição da pressão pilórica basal (de 18 para 5 mmHg, em média) e diminuição do tempo de eventos coordenados entre antro, piloro e duodeno, combinação que facilita a diminuição do TEG. DiBaise et al. (2001) testaram doses de 50 e de 100 *m*g de EM em voluntários saudáveis para estudar o EG, porém, nas duas doses, a diminuição foi modesta (placebo T½=125 min; 50 *m*g

T½=105 min; 100 *m*g T½=110 min (valores médios)). Ritz et al. (2005) obtiveram resultados significativos na aceleração do EG em pacientes de terapia intensiva, administrando EM (1 *m*g/kg), em que o T½ baixou em média de 122 para 98 minutos. Foi demonstrado também em seu trabalho, que o efeito dessa dose não difere significativamente de uma dose de 3 *m*g/kg.

Os resultados deste trabalho também mostraram o efeito importante da eritromicina como pró-cinético, diminuindo significativamente o TEG e TTOC. Além disso, a inovação instrumental na mensuração desses parâmetros mostrou-se eficiente e de boa acurácia, combinando os benefícios de não ser invasiva, não usar radiação, ser de fácil manejo, baixo custo e mínima manutenção. Conforme ilustrado na figura V.01, pôde-se registrar a simultânea relação entre esvaziamento e trânsito, onde se observa que após o início da diminuição do sinal da região gástrica (indicando o processo de esvaziamento), começa a chegada do alimento ao ceco, com conseqüente acúmulo de material magnético nesta região. A figura V.02 demonstra o efeito da EM na aceleração do esvaziamento gástrico e na diminuição do TTOC. Sob efeito de eritromicina, o TEG sofreu uma redução de 53% (157,5±13,6 vs. 84,2±19,7) e o TTOC de 64% (150,0±26,3 vs. 96,6±27,7).

A redução observada do TEG e TTOC pode ser atribuída ao aumento do tônus de contração (Itoh et al., 1984), aumento do fluxo

transpilórico (Mathis & Malbert, 1998) e aumento da coordenação entre antro, piloro e duodeno (Otterson & Sarna, 1990).

Quanto aos resultados da motilidade gástrica, a BAC novamente apresentou uma excelente correlação temporal e espacial (freqüência) com a EGG, tanto no período controle, conforme já observado em humanos por Miranda et al. (1997), como, de forma inédita, sob efeito de drogas.

Na análise em freqüência, nossos resultados diferiram pouco de outros estudos sobre a EM. Holle et al. (1992), utilizando cães de 18 a 24 kg, infundiram 300 mg de EM em 100 ml de salina, por um período de 40 minutos. No trabalho de Holle, a atividade motora cessou após a infusão, registrou-se uma bradigastria no antro e piloro de 30% (4,9±0,6 vs. 3,5±0,05) e um aumento no índice de motilidade em antro, piloro e duodeno. Porém, considerando o peso dos animais, a dose de EM ficou entre 12,5 e 16,5 *m*g/kg e, por isso, pode ter proporcionado maior efeito. Chen et al. (1992) discutiram que sob efeito de EM o traçado do EGG é menos regular e não se observa nenhuma evidência de taquigastria. Chen analisou a freqüência segundo sua força (amplitude) em dois intervalos: 0,5-2,0 cpm e de 2,0-4,0 cpm. Ele observou que o maior aumento ocorreu justamente no intervalo de baixa freqüência, corroborando com o efeito de bradigastria apresentado por Holle e com os resultados obtidos que estamos apresentando. Em nosso estudo, mensuramos uma diminuição significativa ($p<0,01$) nos valores de

freqüência sob efeito de EM, tanto pela BAC como com o EGG, resultando em bradigastria (5,0 cpm vs. 4,3 cpm, aproximadamente). A EM provocou um aumento na amplitude concomitante a uma diminuição na freqüência da ACG e na AEG, conforme ilustrado nas figuras V.10A e V.10B. As duas técnicas apresentaram o mesmo perfil de variação em termos da freqüência.

Outras drogas têm sido usadas no tratamento de sintomas de hipomotilidade e retardo no EG, como a metoclopramida, a cisaprida e a domperidona, que supostamente são pró-cinéticas. No entanto, nenhuma dessas drogas exibe atividade em todos pacientes. Orihata & Sarna (1994) testaram o efeito dessas drogas (em cães) sobre a atividade motora e EG e somente a cisaprida apresentou resultados significativos. A EM tem se apresentado como uma droga eficiente em substituição a essas drogas, exibindo um efeito gastrocinético importante, mesmo no caso de tratamentos em pacientes graves (Ritz et al., 2005).

Os experimentos realizados com propranolol resultaram em aumento importante da atividade motora. Houve um aumento significativo ($p<0,01$) de amplitude em comparação com o período controle e diminuição de freqüência. Controverso aos nossos resultados, Ahluwalia et al. (1994) discutiram que o bloqueio dos receptores β não alterou amplitude e freqüência, porém deve ser considerado que em seu trabalho foi utilizado um bloqueador específico de β1. Deve ser levado em conta a distribuição dos subtipos β2 e β3 no trato digestório, em essencial pela

ligação ainda não completamente estabelecida entre β3 e atividade motora (Horinouchi & Koike, 2001).

O efeito da eritromicina foi superior ao dobro do efeito do propranolol. Essas observações indicam que a modulação adrenérgica exerce um papel menos efetivo sobre a atividade motora gástrica.

A infusão de isoproterenol não apresentou nenhuma mudança significativa em amplitude e freqüência, demonstrando que o bloqueio dos receptores β por propranolol foi efetivo. A dose de isoproterenol administrada foi de 0,5 µg/kg, semelhante a utilizada por Yanda & Summers (1983).

As análises de amplitude realizadas por Índice de Motilidade (IM) e Área Sob a Curva (AUC – "Area Under Curve"), demonstraram equivalência entre esses dois procedimentos de quantificação. O IM é comumente empregado nessas análises (Camilleri et al., 1985; Parkman et al., 1999), mas a AUC pode fornecer informações sobre a potência dos sinais magnéticos e elétricos. Conforme descrito por Oppenheim & Shafer (1999) a somatória do quadrado da amplitude fornece a energia do sinal, isto é: $E = \sum_t x^2(t)$. Assim, normalizado no tempo, temos a potência do sinal. Estamos, portanto, estimando o aumento médio na potência do sinal provocado pela eritromicina ou propranolol.

Os resultados evidenciaram que as drogas provocaram um aumento significativo na amplitude ou potência dos sinais magnéticos e elétricos, apresentando um perfil bastante similar.

Os traçados dos experimentos de eritromicina apresentaram um perfil comum em todos os animais e para as duas técnicas (Fig. V.05), em que ocorre um grande aumento da atividade durante a infusão (período B), um período de baixa atividade quando termina a infusão (período C), seguido de uma fase duradoura de grande intensidade da atividade eletromotora (período D). Além disso, embora seja um dado de grande variabilidade, foi possível medir um período de intensidade máxima da ACG e AEG (35±15 minutos para a BAC e 30±18 minutos para EGG), que poderia estar associado, por exemplo, com a liberação de motilina ou picos de disponibilidade de eritromicina plasmática por redistribuição. Embora tenham realizado seu trabalho com dose antimicrobiana efetiva, Sarna et al. (1991) quantificaram esses parâmetros em um experimento realizado com voluntários saudáveis. A dose de EM usada foi de 500 *m*g, em 100 ml de solução salina, infundida durante 15 minutos. O pico de concentração plasmática de eritromicina ocorreu 15 minutos após o início da infusão, ao mesmo tempo do término da infusão. A meia-vida plasmática da eritromicina foi de 30 minutos e 60 minutos após a infusão a concentração já havia decaído para 27%. A concentração de motilina plasmática não variou durante um período de 30 minutos a partir da infusão de EM.

No entanto, devemos considerar o fato de que doses baixas de EM iniciam complexos motores migratórios prematuros acompanhados de

aumento de motilina plasmática no período interdigestivo (Itoh et al., 1984; Otterson & Sarna, 1990).

Sarna et al. (1991) discutiram que o mecanismo de ação da eritromicina, atuando diretamente na ocupação dos receptores da motilina, são baseados principalmente em estudos *in vitro* e estudos bioquímicos de ligação em tiras de músculo liso. Peeters et al. (1989) mostraram que tanto motilina quanto EM induzem contrações tônicas em tiras musculares, que não são bloqueadas por atropina ou tetrodotoxina. Porém a resposta *in vitro* não apresentaria similaridade fisiológica e farmacológica com a resposta motora *in vivo* observada por outros pesquisadores (Itoh et al., 1984; Otterson & Sarna, 1990; Sarna et al., 1991). *In vivo*, eritromicina age em neurônios pré-sinápticos, pois a resposta pode ser bloqueada por atropina e hexametônio (Coulie et al., 1998).

Para testar essa hipótese, realizamos dois experimentos sob efeito de eritromicina com prévia infusão de atropina. No primeiro (figura V.40), após um período controle de 10 minutos, foi aplicada uma dose de 0,125 mg de atropina *in bolus*. Após 5 minutos, foi feita a infusão de EM (3 mg/kg) e a aquisição continuou por mais 45 minutos. Embora a atropina não tenha causado modificação visualmente efetiva nos registros da BAC e do EGG no período após sua aplicação, a atropinização causou uma resposta menos intensa do efeito esperado da EM durante sua infusão ("período B") e um retardamento do período de intensidade máxima, melhor demonstrado pelo registro da atividade mecânica (BAC).

No segundo experimento (figura V.41), a dose administrada de atropina foi 0,25 mg e imediatamente depois foi aplicada a EM. Os efeitos de bloqueio da atividade motora foram mais intensos que os do experimento anterior e demonstrou que o efeito da EM *in vivo* é de fato mediado por uma via colinérgica e pouco mediado por ocupação direta na musculatura lisa gastrintestinal. Os registros apresentam uma retomada crescente da atividade motora cerca de 20 minutos após a aplicação de EM, que possivelmente, está relacionada à desocupação dos receptores bloqueados pela atropina e por sua metabolização.

Nesses experimentos, os registros elétricos e mecânicos apresentaram perfis diferentes. Interessante notar que apenas na atividade elétrica registrou-se um intenso aumento após infusão de EM, durante um período de aproximadamente 10 minutos (Fig. V.41). Esses dados são preliminares, porém exibem potencial para serem explorados em novos trabalhos.

Os experimentos realizados envolvendo BAC, EGG e pressão (Fig. V.36) permitem avaliar comparativamente e explorar de maneira mais precisa o desempenho dessas técnicas e discutir os aspectos para sua utilização, além de avaliar a resposta eletromecânica e fornecer outras informações sobre a fisiologia da motilidade gástrica.

Outros registros forneceram interessante potencial de exploração em futuros trabalhos. A figura V.13 apresenta um registro de baixa freqüência em torno de 1 cpm (intervalo de 0,7 a 2,0 cpm), que surge

concomitante a um aumento na amplitude do sinal. Esse padrão de freqüência também foi observado em cães (Azpiroz & Malagelada, 1984; Lind et al., 1961) e em humanos (Quigley, 1996; Ahluwalia et al., 1996; Allocca & Penagini, 2004; Américo et al., 2007).

A BAC e o EGG foram eficazes na avaliação multifuncional da motilidade gástrica frente aos efeitos de fármacos em cães. Considerando os resultados obtidos, a BAC, particularmente, pode ser considerada uma ferramenta valiosa nas investigações sobre motilidade em geral, além de investigar os efeitos de outras drogas de interesse sobre o TGI.

VII – CONCLUSÃO

A avaliação dos efeitos de fármacos sobre a atividade motora gástrica é de fundamental importância na construção do conhecimento farmacológico, fisiológico e para a prática clínica. Além disso, empregar técnicas não invasivas para avaliar a motilidade gástrica (esvaziamento, trânsito e atividade eletro-motora) é de extrema importância, principalmente por não interferir no processo avaliado.

Nesse estudo, a Biosusceptometria AC apresentou um desempenho muito semelhante a eletrogastrografia, tanto em análise fisiológica (controle) quanto sob efeito de drogas (resposta).

A eritromicina e o propranolol promoveram aumento na amplitude da ACG e AEG, com simultânea diminuição na freqüência (bradigastria) e, embora os resultados da eritromicina sobre os parâmetros estudados tenham sido mais efetivos, o propranolol também apresentou importantes modificações nos parâmetros estudados, fortalecendo sua aplicação em possíveis tratamentos e demonstrando a importância das vias β adrenérgicas na modulação da atividade motora gástrica.

A eritromicina acelerou o esvaziamento gástrico, apresentando efetiva e significativa diminuição do tempo de esvaziamento e do tempo de trânsito orocecal.

Através da comparação dos efeitos promovidos pela eritromicina sobre a atividade de contração e esvaziamento gástrico, pode-se inferir que essa aceleração no esvaziamento está relacionada com o aumento da motilidade (ACG). O aumento na intensidade das contrações provoca um aumento na vazão de alimento do estômago para o duodeno.

A BAC foi eficaz na avaliação multifuncional da motilidade gástrica frente a efeitos de fármacos, sendo, portanto, uma nova proposta metodológica para investigações da motilidade do TGI.

VIII – REFERÊNCIAS

AHLUWALIA, N.K.; et al. β adrenergic modulation of human upper intestinal propulsive forces. **Gut**, v. 35, p. 1356-1359, 1994.

AHLUWALIA, N.K.; THOMPSON, D.G.; BARLOW, J. Effect of distension and feeding on phasic changes in human proximal gastric tone. **Gut**, v. 39, p. 757-761, 1996.

ALLOCCA, M.; PENAGINI, R. Effect of phasic contractions and tone of the proximal stomach on triggering of transient lower esophageal sphincter relaxation. **Dig. Dis. Sci.**, v. 49, p. 710-714, 2004.

ALVAREZ, W.C. The ectrogastrogram and what it shows. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 78, p. 1116-1119, 1922.

AMÉRICO, M.F.; et al. Scintigraphic validation of ac biosusceptometry to study the gastric motor activity and the intragastric distribution of food in humans. **Neurogastroenterology and Motility**, 2007. (Enviado para publicação).

ANDRÄ, W.; NOWAK, H. **Magnetism in Medicine**. Ed. Berlin: Willey-VCH, 1998. 511p.

ANDRÄ, W.; et al. A novel method for real-time magnetic marker monitoring in the gastrointestinal tract. **Phys. Med. Biol.**, v. 45, 3081-3093, 2000.

ANTHONY, A.; et al. Localization of the beta (beta) 3-adrenoceptor in the human gastrointestinal tract: an immunohistochemical study. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v.12, p. 519-525, 1998.

AZPIROZ, F.; MALAGELADA, J.R. Pressure activity patterns in the canine proximal stomach: response to distension. **Am. J. Physiol.**, v. 247, p. G265-G272, 1984.

BAFFA, O.; et al. Analysis and development of AC biosusceptometer for orocaecal transit time measurements. **Med. Biol. Eng. Comput.**, v. 33, p. 353-357, 1995.

BENMAIR, Y.; et al. Study of gastric emptying using a ferromagnetic tracer. **Gastroenterology**, v. 73, p. 1041– 1045, 1977a.

BENMAIR, Y.; et al. Evaluation of a magnetic method for the measurement of small intestinal transit time. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 68, p. 470– 475, 1977b.

BRADSHAW, L.A.; et al. Vector projection of biomagnetic fields. **Med. Biol. Eng. Comput.**, v. 43, p. 85-93, 2005.

BROWN, J.C.; COOK, M.A.; DRYBURGH, J.R. Motilin, a gastric motor activity stimulating polypeptide: the complete amino acid sequence. **Can. J. Biochem.**, v. 51, p. 533-537, 1973.

BROWN, B.H.; et al. Intestinal smooth muscle electrical potentials recorded from surface electrodes. **Med. Biol. Eng. Comput.**, v. 13, p. 97-103, 1975.

BROWN, J.H.; TAYLOR, P. Agonistas e antagonistas dos receptors muscarínicos. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. (Eds.). **Goodman & Gilman As bases farmacológicas da terapêutica.** Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003. p.119-132.

BÜLBRING, E.; TOMITA, T. Catecholamine action on smooth muscle. **Pharmacol. Rev.**, v. 39, p. 49-96, 1987.

CAMILLERI, M.; FORD, M.J. Review article: colonic sensorimotor physiology in health and its alteration in constipation and diarrheal disorders. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v.12, p. 287-302, 1998.

CAMILLERI, M.; et al. Relation between antral motility and gastric emptying of solids and liquids in humans. **Am. J. Physiol**., v. 249, p. G580-G585, 1985.

CAMILLERI, M. Integrated upper gastrointestinal response to food intake. **Gastroenterology**, v. 131, p. 640-658, 2006.

CARNEIRO, A.A.; BAFFA, O.; OLIVEIRA, R.B. Study of stomach motility using the relaxation of magnetic tracers. **Phys. Med. Biol.**, v. 44, 1691–1697, 1999.

CHEN, J.Z.; YEATON, P.; McCALLUM, R.W. Effect of erythromycin on gastric myoelectrical activity in normal subjects. **Am. J. Physiol.**, v. 263, p. G24-G28, 1992.

CHEN, J.Z.; McCALLUM, R.W. Electrogastrographic parameters and their clinical significance. In: CHEN, J.Z.; McCALLUM, R.W. (Eds.). **Electrogastrography principles and applications**. New York: Raven Press, 1994, p. 45–73.

CORÁ, L.A.; et al. Disintegration of magnetic tablets in human stomach evaluated by alternate current Biosusceptometry. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v. 56, p. 413-420, 2003.

CORÁ, L.A.; et al. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. **Adv. Drug Deliv. Rev.,** v. 57, p.1223–1241, 2005.

CORÁ, L.A.; et al. Magnetic images of the disintegration process of tablets in the human stomach by AC Biosusceptometry. **Phys. Med. Biol.**, v. 50, p. 5523–5534, 2005b.

CORÁ, L.A.; et al. Gastrointestinal transit and disintegration of enteric coated magnetic tablets assessed by AC Biosusceptometry. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 27, 1-8, 2006a.

CORÁ, L.A.; et al. Enteric coated magnetic HPMC capsules evaluated in human gastrointestinal tract by AC Biosusceptometry. **Pharm. Res.**, v. 23, p. 1809-1816, 2006b.

COULIE, B.; et al. Involvement of two different pathways in the motor effects of erythromycin on the gastric antrum in humans. **Gut**, v. 43, p. 395-400, 1998.

DAGHASTANLI, N.A.; et al. Oesophageal transit time evaluated by a biomagnetic method. **Physiol. Meas.**, v. 19, p. 413-420, 1998.

DEPOORTERE, I.; PEETERS, T.L. Transduction mechanism of motilin and motilides in rabbit duodenal smooth muscle. **Regul. Pept.**, v. 55, p. 227-235, 1995.

De PONTI, F.; et al. Adrenergic mechanisms in the control of gastrointestinal motility: from basic science to clinical applications. **Pharmacol. Ther.**, v. 69, p. 59-78, 1996.

DiBAISE, J.K.; et al. Effects of low doses of erythromycin on the ^{13}C *Spirulina platensis* gastric emptying breath test and electrogastrogram: a controlled study in healthy volunteers. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 96, p. 2041-2050, 2001.

DIVE, A.; et al. Gastroduodenal motility in mechanically ventilated critically ill patients: a manometric study. **Crit. Care Med.**, v. 22, p. 441–447, 1994.

DRESSMAN, J.B. Comparison of canine and human gastrointestinal physiology. **Pharm. Res**., v. 3, p. 123-131, 1986.

FEIGHNER, S. D.; et al. Receptor for motilin identified in the human gastrointestinal system. **Science**, v. 284, p. 2184-8, 1999.

FEINLE, C.; et al. Scintigraphic validation of a magnetic resonance imaging method to study gastric emptying of a solid meal in human. **Gut**, v. 44, p. 106-111, 1999.

FREI, E. H.; et al. Ferrites as contrast material for medical X-ray diagnosis. **J. Appl. Phys.**, v. 39, p. 99-101, 1968.

GREGERSEN, H. **Biomechanics of the gastrointestinal tract: new perspectives in motility research and diagnostics.** London: Springer-Verlag, 2003. 262p.

HÄMÄLÄINEN, M.; et al. Magnetoencephalography - theory, instrumentation and applications to noninvasive studies of the working human brain. **Rev. Mod. Phys.**, v. 65, p. 413– 497, 1993.

HARMAR, A.J. Receptors for gut peptides. **Best Pract. Res. Clin. Endoc. Metab.**, v. 18, p. 463-475, 2004.

HASLER, W.L. The physiology of gastric motility and gastric emptying. In: YAMADA, T. (Ed.). **Textbook of gastroenterology**. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1995, p. 181–206.

HEYLAND, D.K.; et al. Impaired gastric emptying in mechanically ventilated, critically ill patients. **Intensive Care Med.**, v. 22, p. 1339-1344, 1996.

HOBBIE, R.K. **Intermediate physics for medicine and biology**. New York: AIP Press, 2001. 575p.

HOFFMAN, B.B. Catecolaminas, fármacos simpaticomiméticos e antagonistas dos receptors adrenérgicos. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. (Eds.). **Goodman & Gilman As bases farmacológicas da terapêutica.** Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003. p.163-203.

HOLLE, G.E.; STEINBACH, E.; FORTH, W. Effects of erythromycin in the dog upper gastrointestinal tract. **Am. J. Physiol.**, v. 263, p. G52-G59, 1992.

HORINOUCHI, T.; KOIKE, K. Agonistic activity of SR59230A at atypical b-adrenoceptors in guinea pig gastric fundus and duodenum. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 416, p.165–168, 2001.

ITOH, Z.; et al. Erythromycin mimics exogenous motilin in gastrointestinal contractile activity in the dog. **Am. J. Physiol.**, v. 247, p. G688-G694, 1984.

JANSSENS, J.; et al. Improvement of gastric emptying in diabetic gastroparesis by erythromycin. Preliminary studies. **N. Engl. J. Med.**, v. 322, p. 1028-1031, 1990.

KOCH, K.L.; STERN, R.M. Nausea and vomiting and gastric dysrhythmias. In: CHEN, J.Z.; McCALLUM, R.W. (Eds.). **Electrogastrography principles and applications**. New York: Raven Press, 1994, p. 309–330.

LEVANON, D.; et al. Effects of meal volume and composition on gastric myoelectrical activity. **Am. J. Physiol**., v. 274, p. G430-G434, 1998.

LIND, J.F.; et al. Motility of the gastric fundus. **Am. J. Physiol.**, v. 201, p. 197-202, 1961.

MATHIS, C.; MALBERT, C.H. Erythromycin gastrokinetic activity is partially vagally mediated. **Am. J. Physiol.**, v. 274, p. G80-G86, 1998.

McINTYRE, A.S.; et al. Modulation of human upper intestinal nutrient transit by a beta adrenoreceptor mediated pathway. **Gut**, v. 33, p. 1062-1070, 1992.

MEDHUS, A.W.; et al. Low-dose intravenous erythromycin: effects on postprandial and fasting motility of the small bowel. **Aliment. Pharmacol. Ther.,** v. 14, p. 233-240, 2000.

MINTCHEV, M.P.; KINGMA, Y.J.; BOWES, K.L. Accuracy of cutaneous recordings of gastric electrical activity. **Gastroenterology**. v. 104, p. 1273-1280, 1993.

MIQUELIN, C.A.; et al. Pharyngeal clearance and pharyngeal transit time determined by a biomagnetic method in normal humans. **Dysphagia**, v. 16, p. 308-312, 2001.

MIRANDA, J.R.A.; et al. An AC biosusceptometer to study gastric emptying, **Med. Phys.**, v. 19, p. 445–448, 1992.

MIRANDA, J.R.A.; et al. A novel biomagnetic method to study gastric antral contractions. **Phys. Med. Biol.**, v. 42, p. 1791– 179, 1997.

MONTEJO, J.C. Enteral nutrition-related gastrointestinal complications in critically ill patients: a multicenter study: The Nutritional and Metabolic Working Group of the Spanish Society of Intensive Care Medicine and Coronary Units. **Crit. Care Med**., v. 27, p. 1447–1453, 1999.

MORAES, R.; et al. Measurement of gastric contraction activity in dogs by means of AC Biosusceptometry. **Physiol. Meas.**, v. 24, p. 337-345, 2003.

MOREIRA, M.; MURTA, L.O.; BAFFA, O. Imaging ferromagnetic tracers with an AC biosusceptometer. **Rev. Sci. Instrum.**, v. 71, p. 2532-2538, 2000.

MUTLU, G.M.; MUTLU, E.A.; FACTOR, P. GI complications in patients receiving mechanical ventilation. **Chest**, v. 119, p. 1222-1241, 2001.

O'BRIEN, J.D.; et al. Perturbation of upper gastrointestinal transit and antroduodenal motility by experimentally applied stress: the role of beta-adrenoreceptor mediated pathways. **Gut**, v. 30, p. 1530-1539, 1989.

OKANO, H. EM523L, a nonpeptide motilin agonist, stimullates gastric emptying and pancreatic polypeptide secretion. **Peptides**, v. 17, p. 895-900, 1996.

OLIVEIRA, R.B.; et al. Evaluation of a biomagnetic technique for measurement of orocaecal transit time. **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 8, p. 491-495, 1996.

OPPENHEIM, A.V.; SHAFER, R.W. **Discrete-time signal processing.** New Jersey: Prentice Hall, 1999. 482p.

ORIHATA, M.; SARNA, S.K. Contractile mechanisms of action of gastroprokinetic agents: cisapride, metoclopramide, and domperidone. **Am. J. Physiol.**, v. 266, p. G665-G676, 1994.

OTTERSON, M.F.; SARNA, S.K. Gastrointestinal motor effects of erythromycin. **Am. J. Physiol.**, v. 259, p. G355-G363, 1990.

PARKMAN, H.P.; et al. Cholinergic effects on human gastric motility. **Gut**, v. 45, p. 346-354, 1999.

PARKMAN, H.P; et al. Eletrogastrography: a document prepared by the gastric section of the American Motility Society Clinical GI Motility Testing Task Force. **Neurogastroenterol. Motil.,** v. 15, p.89-102, 2003.

PEETERS, T.L.; et al. Erythromycin is a motilin receptor agonist. **Am. J. Physiol.**, v. 237, p. G470-G474, 1989.

PEETERS, T.L. Erythromycin and other macrolides as prokinetic agents. **Gastroenterology**, v. 105, p. 1886-1899, 1993.

QIAN, L.W.; PASRICHA, P.J.; CHEN, J.D.Z. Origins and patterns os spontaneous and drug-induced canine gastric myoelectrical dysrhythmia. **Dig. Dis. Sci.**, v. 48, p. 508-515, 2003.

QUIGLEY, E.M.M. Gastric and small intestinal motility in health and disease. **Gastroenterol**. **Clin. North Am.,** v. 25, p. 113-145, 1996.

QUIGLEY, E.M.M. Gastroduodenal motility. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, v. 16, p. 479– 488, 2000.

RAO, S.S.C.; SCHULZE-DELRIEU, K. The stomach, pylorus and duodenum. In: KUMAR, D.; WINGATE, D. (Eds.). **An illustrated guide to gastrointestinal motility**. London: Churchill Livingstone, 1993. p. 373–392.

REITZ, J.R.; MILFORD, F.J.; CHRISTY, R.W. **Fundamentos da teoria eletromagnética**. Rio de Janeiro: Campus, 1982. 516p.

RICHARDS, W.; PARISH. K.; WILLIANS, L.F. The usefulness of small-bowel manometry in the diagnosis of gastrointestinal motility disorders. **Am. Surg.**, v. 56, p. 238–244, 1990.

RITZ, M.A.; et al. Erythromycin dose of 70 mg accelerates gastric emptying as effectively as 200 mg in the critically ill. **Intensive Care Med.**, v. 31, p. 949-954, 2005.

ROMANI, G.L.; WILLIAMSON, S.J.; KAUFMAN, L. Biomagnetic instrumentation. **Rev. Sci. Instrum.**, v. 53, 1815-1845, 1982.

ROMEIRO, F.G.; et al. A novel biomagnetic approach to study caecocolonic motility in humans. **Neurogastroenterol. Motil.**, v. 18, p. 1078-1083, 2006.

ROPERT, A.; et al. Simultaneous assessment of liquid emptying and proximal gastric tone in humans. **Gastroenterology**, v. 105, p. 667-674, 1993.

SARNA, S.K. Cyclic motor activity; migrating motor complex: 1985. **Gastroenterology**, v. 89, p. 894-913, 1985.

SARNA, S.K.; et al. Gastrointestinal motor effects of erythromycin in humans. **Gastroenterology**, v. 101, p. 1488-1496, 1991.

SCHRAMM, C.M.; GRUNSTEIN, M.M. Assessment of signal transduction mechanisms regulating airway smooth muscle contractility. **Am. J. Physiol.**, v. 262, p. L119-Ll39, 1992.

SCOTT, S.M. Manometric techniques for the evaluation of colonic motor activity: current status. **Neurogastroenterol. Motil.**, v. 15, p. 483-513, 2003.

SIEGEL, J.A.; et al. Biphasic nature of gastric emptying. **Gut**, v. 29, p. 85-89, 1988.

SILVERS, D.; et al. Domperidone in the management of symptoms of diabetic gastroparesis: efficacy, tolerability, and quality-of-life outcomes in a multicenter controlled trial. **Clin. Ther.**, v. 20, p. 438-453, 1998.

SMOUT, A.J.P.M.; VAN DER SCHEE, E.J.; GRASHUIS, J.L. What is measured in electrogastrography? **Dig. Dis. Sci.**, v. 25, p. 179-187, 1980.

SMOUT, A.J.P.M.; JEBBINK, H.J.A.; SAMSOM, M. Acquisition and analysis of electrogastrographic data: the dutch experience. In: CHEN, J.Z.; McCALLUM, R.W. (Eds.). **Electrogastrography principles and applications**. New York: Raven Press, 1994, p. 3–30.

STERNICKEL, K.; BRAGINSKI, A.I. Biomagnetism using SQUIDs: status and perspectives. Supercond. Sci. Technol., v. 19, S160–S171, 2006.

SUN, W.M.; et al. Relationship between surface electrogastrography and antropyloric pressures. **Am. J. Physiol.**, v. 268, p. G424-G430, 1995.

TACK, J.; et al. Effect of erythromycin on gastric motility in controls and in diabetic gastroparesis. **Gastroenterology**, v. 103, p. 72-79, 1992.

TANIYAMA, K.; et al. Distribution of β-adrenoceptors associated with cAMP-generating system in cat colon. **Am. J. Physiol.**, v. 16, p. G378-G382, 1987.

YANDA, R.; SUMMERS, R.W. Activity fronts in fed dogs: effect of a β-adrenergic agonist. **Am. J. Physiol.**, v. 8, p. G647-G650, 1983.

WILLIAMSON, S.J.; KAUFMAN, L. Biomagnetism. **J. Magn. Magn. Mater.**, v. 22, 129-201, 1981.

ZARA, G.P.; et al. Effects of erythromycin on gastrointestinal tract motility. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 16, p. 175-179, 1985.

IX – ANEXO

unesp

Universidade Estadual Paulista
Instituto de Biociências
CEEA – COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

Caixa Postal 510 - 18.618-000 - Botucatu, SP - **fone** (014) 3811 6014/ 3814 6013 - **fax**(014)38153744

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 14/05-CEEA, sobre *"Ação de drogas sobre a motilidade e esvaziamento gástrico em cães"*, sob a responsabilidade do **Prof. Dr. JOSÉ RICARDO DE ARRUDA MIRANDA**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela ***COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL*** (CEEA), em reunião de 16/03/2005.

Botucatu, 16 de março de 2005.

Prof.Dr. Francisco de Assis Ganeo de Mello
Presidente - CEEA

Nádia Jovêncio Cotrim
Secretária – CEEA

unesp

Universidade Estadual Paulista
Instituto de Biociências
CEEA – COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
Caixa Postal 510 - 18.618-000 - Botucatu, SP - **fone** (014)3811 6014/ 3811 6013 **fax**(014)38153744

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 14/05 about *"Drugs action on motility and gastric emptying in dogs"* gree with ETHICAL PRINCIPLES IN ANIMAL RESEARCH adopted by Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and was approved by the BIOSCIENCE INSTITUTE/UNESP ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL RESEARCH (CEEA) in march/16/2005 meeting.

Botucatu, march 16, 2005.

Prof. Dr. Francisco de Assis Ganeo de Mello
President - CEEA

Nádia Jovêncio Cotrim
Secretary – CEEA