

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA O ESTUDO DA MOTILIDADE
GASTRINTESTINAL NO CÃO EMPREGANDO A BIOSUSCEPTOMETRIA DE
CORRENTE ALTERNADA (BAC).**

Madileine Francely Américo

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do Título de Doutor, pelo curso de Pós-Graduação em Ciências – Área de concentração: Fisiologia.

**Ribeirão Preto
2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA O ESTUDO DA MOTILIDADE
GASTRINTESTINAL NO CÃO EMPREGANDO A BIOSUSCEPTOMETRIA DE
CORRENTE ALTERNADA (BAC).**

Madileine Francely Américo

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do Título de Doutor, pelo curso de Pós-Graduação em Ciências – Área de concentração: Fisiologia.

Orientador: Dr Ricardo Brandt de Oliveira

**Ribeirão Preto
2008**

Tua Caminhada

Tua caminhada ainda não terminou....
A realidade te acolhe
dizendo que pela frente
o horizonte da vida necessita
de tuas palavras
e do teu silêncio.

Se amanhã sentires saudades,
lembra-te da fantasia e
sonha com tua próxima vitória.
Vitória que todas as armas do mundo
jamais conseguirão obter,
porque é uma vitória que surge da paz
e não do ressentimento.

É certo que irás encontrar situações
tempestuosas novamente,
mas haverá de ver sempre
o lado bom da chuva que cai
e não a faceta do raio que destrói.

Tu és jovem.
Atender a quem te chama é belo,
lutar por quem te rejeita
é quase chegar a perfeição.
A juventude precisa de sonhos
e se nutrir de lembranças,
assim como o leito dos rios
precisa da água que rola
e o coração necessita de afeto.

Não faças do amanhã
o sinônimo de nunca,
nem o ontem te seja o mesmo
que nunca mais.
Teus passos ficaram.
Olhes para trás...
mas vá em frente
pois há muitos que precisam
que chegues para poderem seguir-te.

Charles Chaplin

AGRADECIMENTOS

"Devemos inscrever em bronze
os benefícios que recebemos:
no ar, as injúrias."

Galileu Galilei

AGRADECIMENTOS

- Em primeiro lugar a Deus por ter me sustentado em todos os momentos difíceis desse trabalho, pois foram muitos...
"A fé em Deus nos faz crer no incrível, ver o invisível e realizar o impossível."
- Ao orientador Prof. Dr. Ricardo Brandt de Oliveira pelo enorme aprendizado que nossa convivência, em todos esses anos, trouxe para mim,
"Transportai um punhado de terra todos os dias e fareis uma montanha." Confúcio
- Ao Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda que foi generoso em tudo: nos conselhos, no otimismo, nos ensinamentos e no bom humor.
"A verdadeira medida de um homem não se vê na forma como se comporta em momentos de conforto e conveniência, mas em como se mantém em tempos de controvérsia e desafio." Martin Luther King Jr.
- À Dra Luciana A. Cora, mesmo que as palavras sejam insuficientes para expressar minha gratidão, amiga de todas as horas e de TODOS os trabalhos desde o primeiro dia de faculdade.
"No que diz respeito ao desempenho, ao compromisso, ao esforço, à dedicação, não existe meio termo. Ou você faz uma coisa bem-feita ou não faz." Ayrton Senna
- Aos meus pais Marisa N, Américo e Vidal Américo, que são meus grandes amigos e, modelos de correção e de amor.
"Os nossos pais amam-nos porque somos seus filhos, é um fato inalterável. Nos momentos de sucesso, isso pode parecer irrelevante, mas nas ocasiões de fracasso, oferecem um consolo e uma segurança que não se encontram em qualquer outro lugar." Bertrand Russell
- Ao meu irmão Edécio R, Américo e minha cunhada Ekaterina V. Américo pelo constante apoio e pelas dádivas Sofia e Aleksandr (Sasha) para quem tenho a felicidade de ser simplesmente "tíotia".
"Omnia vincit amor. любовь побеждает все. O amor vence tudo". Virgílio
- As amigas Dras Luciane Faine (Xops) e Suzane Ramos da Silva (Araris) por partilharem momentos off-work imprescindíveis para minha sanidade mental.
"Sofremos demasiado pelo pouco que nos falta e alegriamo-nos pouco pelo muito que temos." Shakespeare
- Aos bons e velhos amigos de sempre: Ligia Subitoni, Kleber E. Campos (Tança), Juliana Andrade (Juju), Erika Nakai (Perau), Patrícia Fidelis,

Bernadete e Olga Grivol. E em especial ao Gui, literalmente um anjo para mim!

"Somos todos viajantes pelas agruras do mundo, e o melhor que podemos achar em nossas viagens é um amigo honesto." Robert Louis Stevenson

- Ao casal de amigos Fernando G. Romeiro e Patrícia Mattos pela paciência, bons conselhos e bom humor.
"A verdadeira amizade é como a fosforescência: nota-se melhor quando tudo ficou às escuras."
Tagore
- De coração a um anjo na forma de cirurgiã pediátrica Dra Rozemeire Garcia Marques, que operou os cães com enorme competência e tremenda boa vontade.
"Todas as coisas são difíceis antes de se tornarem fáceis." John Norley
- Ao amigo Uilian de Andreis pela ajuda nas medidas experimentais com dedicação ética e carinhosa aos animais.
"Quem não sobe nas altas montanhas, não conhece a planície". Provérbio Chinês
- Aos outros membros da "família" do laboratório: Marjorie do Val Ietsugu, Leandro Bolognesi, Paulo R Fonseca, Murilo Stelzer, Fabiano C. Paixão e Giovana Evangelista pela amizade...
"Se um coração é grande, nenhuma ingratidão o fecha, nenhuma indiferença o cansa". Leon Tolstoi
- À Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB - UNESP) por disponibilizar a estrutura e os funcionários da medicina experimental para as cirurgias.
- Aos professores e funcionários do Departamento de Fisiologia da FMRP pela atenção, especialmente Cláudia Vanzella que sempre foi solidária e de grande ajuda com todos os obstáculos burocráticos.
"A simplicidade é o último degrau da sabedoria" Gibran
- Aos cães cuja participação foi compulsória, complicada e nem por isso menos afetuosa. Esse trabalho é um tributo a todos vocês!!
"A vida é uma pedra de amolar: desgasta-nos ou afia-nos, conforme o metal de que somos feitos."
George Bernard Shaw
- Ao apoio financeiro da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) sem o qual teria sido impossível chegar até aqui!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Eletrodo tipo marcapasso.....	14
Figura 2	Fragmento de marcador magnético.....	14
Figura 3	Cão anestesiado antes da cirurgia.....	17
Figura 4	Incisão medial.....	17
Figura 5	Segmentos intestinais.....	17
Figura 6	Sutura em forma de bolsa.....	18
Figura 7	Implantação de marcador magnético no cólon.....	18
Figura 8	Fixação do marcador magnético.....	18
Figura 9	Eletrodo e oclusão do marcador.....	18
Figura 10	Cólon proximal com os dois conjuntos implantados.....	18
Figura 11	Sutura externa.....	19
Figura 12	Radiografia.....	19
Figura 13	Delineamento dos experimentos.....	21
Figura 14	Animal posicionado sem anestesia.....	23
Figura 15	Aparato para registro dos sinais.....	25
Figura 16	Eletrodos antes do posicionamento da BAC.....	25
Figura 17	Posicionamento da BAC multisensores.....	25
Figura 18	Diagrama de bloco do sistema de registro mielétrico.....	26
Figura 19	Registros da atividade colônica obtidos pela BAC e pela EMG empregando Prostigmina® e Buscopan®.....	33
Figura 20	Amplitude da atividade colônica.....	34
Figura 21	Atividade colônica de baixa frequência.....	36
Figura 22	Prostigmina® e Buscopan® sobre a amplitude de baixa frequência.....	37
Figura 23	Atividade colônica de alta frequência.....	38
Figura 24	Prostigmina® e Buscopan® sobre a amplitude da alta frequência.....	39
Figura 25	Prostigmina® e Buscopan® sobre a amplitude de frequência tipicamente gástrica.....	40
Figura 26	Registros da atividade colônica obtidos pela EMG e pela BAC em diferentes doses de eritromicina.....	42
Figura 27	Perfis temporais da resposta colônica às diferentes doses de eritromicina.....	43
Figura 28	Intervalo entre a administração da eritromicina e seu efeito máximo e duração da resposta no cólon.....	44
Figura 29	Amplitude da resposta colônica às doses de eritromicina, incluindo a frequência gástrica.....	45
Figura 30	Amplitude da resposta colônica às doses de eritromicina, excluindo a frequência gástrica.....	45

Figura 31	Curvas dose-resposta colônica excluindo a frequência gástrica	46
Figura 32	Curvas dose-resposta colônica incluindo a frequência gástrica	46
Figura 33	Atividade colônica de baixa frequência	49
Figura 34	Efeito das doses de eritromicina sobre a amplitude da baixa frequência.....	50
Figura 35	Atividade colônica com frequência de 0,04-0,05 Hz.....	50
Figura 36	Efeito das doses de eritromicina sobre a amplitude da frequência de 0,04-0,05 Hz	51
Figura 37	Atividade colônica de alta frequência.....	53
Figura 38	Efeito das doses de eritromicina sobre a amplitude da alta frequência.....	54
Figura 39	Efeito das doses de eritromicina sobre a motilidade gástrica	55
Figura 40	Perfis temporais da resposta gástrica às diferentes doses de eritromicina	56
Figura 41	Intervalo entre a administração da eritromicina e seu efeito máximo e duração da resposta no estômago	57
Figura 42	Efeitos das doses de eritromicina sobre a amplitude da frequência gástrica	58
Figura 43	Curvas dose-resposta do estômago	59
Figura 44	Efeito da refeição sobre a amplitude da atividade gástrica.....	61
Figura 45	Registros da atividade colônica obtidos pela EMG e BAC alterando-se o estado prandial	62
Figura 46	Efeito da refeição sobre a amplitude da atividade colônica.....	63
Figura 47	Efeito da refeição sobre a amplitude da baixa frequência.....	64
Figura 48	Efeito da refeição sobre a amplitude da alta frequência	65
Figura 49	Resposta colônica à refeição no tempo	66
Figura 50	Correlação entre BAC e EMG para o estômago	67
Figura 51	Registros elétricos sem filtragem do estômago pelo eletrodo implantado e pelo superficial.....	68
Figura 52	Registros elétricos filtrados do estômago pelo eletrodo implantado e pelo superficial	69
Figura 53	Interferência na atividade elétrica	70
Figura 54	Interferência na atividade mecânica.....	71
Figura 55	Correlação temporal para a atividade elétrica colônica de alta frequência entre eletrodos implantados no estômago e no cólon	72
Figura 56	Correlação temporal para a atividade elétrica gástrica entre eletrodos implantados no estômago e no cólon	73
Figura 57	Atividade colônica com frequência de 1,8 cpm.....	74
Figura 58	Atividade colônica com frequência de 3,0 cpm.....	75
Figura 59	Atividade colônica com frequência de 7,2 cpm	76
Figura 60	Atividade colônica com frequência de 9,0 cpm	77
Figura 61	Atividade colônica com frequência de 11,5 com registrada pela BAC	78
Figura 62	Atividade colônica com frequência de 11,5 com registrada pela EMG	79
Figura 63	Registros colônicos realizados pela BAC 10 dias e 6 meses após a implantação.....	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Perfil das frequências colônicas nos experimentos empregando Prostigmina® e Bucopan®	35
Tabela 2	Atividade colônica de baixa frequência	36
Tabela 3	Atividade colônica de alta frequência	38
Tabela 4	Atividade de contração gástrica	40
Tabela 5	Correlação entre EMG e BAC para baixa frequência colônica	41
Tabela 6	Perfil das frequências colônicas nos experimentos com eritromicina	47
Tabela 7	Atividade colônica de baixa frequência	48
Tabela 8	Atividade colônica de frequência de 0,04-0,05 Hz	51
Tabela 9	Atividade colônica de alta frequência	52
Tabela 10	Atividade de contração gástrica	58
Tabela 11	Correlação entre EMG e BAC para baixa frequência colônica	60
Tabela 12	Correlação entre EMG e BAC para frequências de 0,04-0,05 Hz	60
Tabela 13	Correlação entre EGG e BAC na faixa de frequência gástrica	60
Tabela 14	Frequências de contração gástrica durante o jejum e após uma refeição	61
Tabela 15	Perfil das frequências colônicas antes e após uma refeição	63
Tabela 16	Atividade colônica de baixa frequência	64
Tabela 17	Atividade colônica de alta frequência	65
Tabela 18	Frequências de contração gástrica registradas por eletrodo implantado e EGG	68

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Animais	13
3.2 Implantação cirúrgica de eletrodos e marcadores magnéticos	14
3.3 Delineamento experimental	20
A – Prostigmina® e Buscopan®.....	21
B – Eritromicina (EM).....	22
C – Animais acordados.....	22
D – Implante simultâneo de conjuntos no cólon e no estômago.....	23
3.4 Aquisição de sinais	24
3.5 Sistema para medidas magnéticas (BAC)	24
3.6 Sistema para medidas da atividade mielétrica (EMG)	26
3.7. Processamento de Sinais	27
3.7.1. Análise de frequência.....	28
3.7.2. Análise da amplitude.....	29
3.8 Outras abordagens	31
3.9 Análise estatística	32
4. RESULTADOS	33
A – A motilidade gastrintestinal de cães anestesiados avaliada pela BAC e pelo EMG. Atividade espontânea e efeitos da Prostigmina® e do Buscopan®	33
A.1 – Efeitos da Prostigmina® e do Buscopan® sobre a motilidade colônica.....	33
A.2 – Efeitos da Prostigmina® e do Buscopan® sobre a motilidade gástrica.....	39
A.3 – Correlação em frequência.....	40
B – Efeitos de diferentes doses de Eritromicina (EM) sobre a motilidade gastrintestinal de cães anestesiados	41
B.1 – Ação da Eritromicina sobre o cólon.....	41
B.2 – Ação da Eritromicina sobre a contratilidade do estômago.....	54
B.3 – Correlação em frequência.....	59
C – Efeitos de diferentes doses de Eritromicina (EM) sobre a motilidade gastrintestinal de cães anestesiados	61
C.1 – Atividade motora gástrica após uma refeição padronizada.....	61
C.2 – Resposta colônica imediata a uma refeição.....	62
C.3 – Correlação em frequência.....	65
C.4 – Resposta colônica da atividade motora colônica à refeição.....	66
D – Registros gástricos e colônicos obtidos com conjuntos implantados no cólon e no estômago	67
D.1 – Correlação entre a BAC e a EMG por meio de implantação no estômago.....	67
D.2 – Registros obtidos por eletrodos gástricos e EGG.....	68
D.3 – Interferência entre os registros gástricos e os colônicos.....	69
D.4 – Correlação Temporal entre frequências elétricas gástricas e colônicas.....	71
E – Outros resultados	74
E.1 – Exemplos de frequências esporádicas.....	74
E.2 – Permanência dos marcadores magnéticos implantados.....	80
5. DISCUSSÃO	81
6. CONCLUSÕES	100
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101

RESUMO

AMÉRICO, M.F. **Desenvolvimento de método para o estudo da motilidade gastrointestinal no cão empregando a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC)**. 2008. 111 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

A motilidade colônica é pouco compreendida quando comparada a do TGI (trato gastrointestinal) superior. A utilização de metodologias, sem radiação ionizante e de baixo custo em modelos animais, pode contribuir para o entendimento da atividade colônica. O objetivo desse trabalho foi validar a BAC (Biosusceptometria AC), por meio da EMG (Eletromiografia), em um modelo em cães para avaliar a motilidade do TGI. Conjuntos eletrodo/marcador magnético foram implantados na serosa colônica e gástrica de sete cães saudáveis. Três protocolos foram utilizados: a) controle, Prostigmina[®] e Buscopan[®]; b) controle, eritromicina (EM) em três doses (0,4; 2,0 e 10 mg/Kg) e pós-droga; c) jejum e alimentado sem anestesia. A atividade colônica nas faixas de baixa e de alta frequência e a faixa típica do estômago foram quantificadas em frequência e amplitude. Apenas a EMG registrou alta frequência, no entanto, a BAC e a EMG tiveram alta correlação em baixa frequência. O protocolo empregando Prostigmina[®] e Buscopan[®] demonstrou que a BAC é capaz de registrar o aumento e a diminuição da motilidade, respectivamente. O efeito pró-cinético da eritromicina sobre o estômago e sobre o cólon é dependente da dose administrada. O aumento da dose de EM diminuiu o intervalo entre administração e resposta máxima, ao contrário do que ocorreu com a duração da resposta. Na faixa de alta frequência, tanto a Prostigmina[®] quanto a dose de 10 mg/kg da EM provocaram diminuição da atividade. A resposta colônica à refeição foi registrada em cães não anestesiados. Houve interferência elétrica e mecânica do estômago sobre o cólon e vice-versa com alta correlação temporal. A correlação entre EMG e BAC permitiu caracterizar os efeitos colônicos de drogas tradicionais, pró-cinéticos e refeições. A BAC é uma técnica capaz de registrar as contrações, contribuindo para o entendimento da motilidade do TGI, inclusive a colônica.

Palavras-chave: Eritromicina, Prostigmina, Cólon, Eletromiografia.

ABSTRACT

AMÉRICO, M.F. **Development of method to study gastrointestinal motility in dogs employing AC Biosusceptometry (ACB)**. 2008. 111 f. Thesis (Doctoral) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

The colonic motility is poorly understood when compared to superior GI (gastrointestinal) tract. Animal model employing radiation free and low cost methodologies can be used to evaluate the effects of several stimuli and drugs. The aim of this work was to validate the ACB (AC Biosusceptometry) through EMG (Electromyography) in a dog model to evaluate the GI motility. Pairs of electrode/magnetic marker have been implanted in colonic and gastric serosa in seven healthy dogs. Three protocols were carried out: a) control period, Prostigmine[®] and Buscopan[®]; b) control period, erythromycin (EM) in three different doses (0.4; 2.0 and 10 mg/Kg) and post-drug; c) fast and fed without anesthesia. Colonic activity of low and high frequency and gastric motor activity were quantified in frequency and in amplitude. High frequency was registered only by EMG, although ACB and EMG presented good correlation for low frequency. Prostigmine[®] and Buscopan[®] protocol showed that ACB was able to record increases and decreases in colonic motility, respectively. Dose-dependent effects of EM on canine colon and stomach were shown. Higher EM doses have decreased the interval between drug administration and maximal effect, in opposition to duration of response. In the high frequency, Protigmine[®] and 10 mg/Kg of EM reduced activity. Colonic response to meal was recorded in awaked dogs. There was interference in the electrical and mechanical recordings of the stomach on the colon and vice versa, presenting high temporal correlation. The correlation between EMG and ACB allowed characterizing the effects of traditional and prokinetic drugs and meal. ACB is a technique able to register motor activity, contributing to understand the gastrointestinal motility, even colonic.

Keywords: Erythromycin, Prostigmine, Colon, Electromyography.

INTRODUÇÃO

"Procurai suportar com ânimo
tudo aquilo que precisa ser feito."

Sócrates

1. INTRODUÇÃO

O cólon é um segmento do trato gastrintestinal (TGI), presente em várias espécies, que obedece a uma divisão funcional e apresenta diversidades estruturais entre as espécies, como as haustrações e as *taenia coli*, por exemplo, que estão presentes no homem, mas não no cão (HUIZINGA & DANIEL, 1986). No entanto, a despeito das diferenças morfológicas, diversos estudos sugerem expressiva similaridade quanto à organização da atividade elétrica e ao acoplamento eletromecânico colônico, que são compartilhadas entre o homem e outras espécies, como o cão e o gato (EL-SHARKAWY, 1983; RAE et al., 1998; SCOTT et al., 1995; SMITH; REED; SANDERS, 1987). O TGI de cães é considerado, portanto, um bom modelo de estudo, pois possui conformações anatômica e fisiológica razoavelmente análogas à do homem (DRESSMAN, 1986) e uma grande quantidade de estudos da motilidade já foi realizada nessa espécie (RAE et al., 1998; YOU & CHEY, 1984).

Dentre as propriedades funcionais do cólon destaca-se a motilidade, que é a capacidade de contrair e relaxar a sua musculatura para misturar e propelir o material fecal ao longo do seu comprimento. O ceco e o cólon ascendente são chamados de cólon direito ou proximal, enquanto o cólon descendente e o sigmóide são conhecidos como cólon esquerdo ou distal; o cólon dispõe ainda de uma região denominada anorectal. No cólon proximal, e em menor grau nos demais segmentos, os padrões motores estão amplamente vinculados à sua função de propulsão, absorção de água e eletrólitos. Esse segmento apresenta movimentos lentos e coordenados que facilitam a absorção, além de propiciar o crescimento, no lúmen colônico, de

microorganismos capazes de facilitar a absorção de certos nutrientes para os próprios colonócitos (CHRISTENSEN, 1987; CAMILLERI & FORD, 1998).

A motilidade colônica é pouco compreendida, quando comparada à do TGI superior, devido a fatores como complexidade resultante de seu arranjo muscular, inacessibilidade do órgão, ausência de um modelo animal verdadeiramente apropriado, além da necessidade de se efetuar longas observações impostas por suas características circadianas (CHRISTENSEN, 1987; FREXINOS & DELVAUX, 1993). Sarna (1991) classificou a motilidade colônica em: a) contrações fásicas individuais; b) contrações organizadas em grupos como, por exemplo, os complexos motores migratórios; c) contrações propulsivas especiais, como os movimentos de massa. Dois tipos de contrações fásicas individuais foram registradas no cólon do homem, do cão, do gato, do porco, do rato e do coelho: as de curta duração e as de longa duração. No cólon do homem e no de cães as contrações de curta duração duram menos de 15 segundos enquanto as de longa duração persistem por 40-60 segundos (SARNA, 1991a). *In vivo*, os dois tipos de contração foram registrados na camada circular do músculo liso, enquanto *in vitro* as contrações de longa duração foram observadas exclusivamente na camada longitudinal do músculo liso (EL-SHARKAWY, 1983). Cada tipo de contração pode ocorrer de modo independente e as de longa duração podem se sobrepor às de curta duração. Tal sobreposição torna o formato de onda desse sinal altamente complexo, visto que contém vários componentes de frequência e que variam no tempo (HUIZINGA et al., 1985; SARNA, 1991a; SHEARIN; BOWES; KINGMA, 1978).

Essa complexidade da atividade colônica pode ser, ao menos em parte, explicada pelo fato dos músculos longitudinais e circulares do cólon apresentarem

diferentes atividades mioelétricas (HUIZINGA et al., 1985). Estudos *in vitro* mostraram uma atividade elétrica global altamente variável e, portanto, difícil de ser interpretada em registros *in vivo*, que são constituídos por uma composição dessas duas atividades (EL-SHARKAWY, 1983; HUIZINGA & DANIEL, 1986).

No estômago existe uma atividade elétrica rítmica, que ocorre de modo onipresente e coordenado nas camadas musculares lisas circular e longitudinal. Essa atividade, conhecida como atividade elétrica de controle (ECA), ou onda lenta, é gerada e propagada pelas células intersticiais de Cajal (HORIGUCHI et al., 2001; SANDERS; KOH; WARD, 2006). A ECA existe em todo o TGI, embora cada segmento apresente uma frequência específica. A contração muscular só acontece quando um potencial de ação (atividade elétrica de resposta – ERA), disparado por um neurotransmissor, incide sobre o platô de uma onda lenta de controle (REDDY; COLLINS; DANIEL, 1987). Assim, cada segmento do TGI tem o número máximo de contrações associado à sua frequência de ondas lentas. O acoplamento entre as células musculares lisas permite que atuem em uníssono, gerando uma contração mecanicamente efetiva e que se propaga aboral e circunferencialmente (RAO & SCHULZE-DELRIEU, 1993). No homem a frequência de contração gástrica é de aproximadamente 3 cpm (ciclos por minuto), enquanto no cão é de 5 cpm.

No cólon, a atividade mielétrica parece apresentar-se sob duas formas: atividade elétrica de controle (ECA) e complexo elétrico de contração (CEC) (SARNA, 1991a). As contrações de curta duração estão associadas à ECA, enquanto as contrações de longa duração estão relacionadas ao CEC, um tipo de atividade elétrica que consiste de grupos intermitentes de oscilações no potencial de membrana. A ECA tem frequência de 2-13 cpm no homem e 4-6 cpm no cão, enquanto o CEC

apresenta frequência de 13-40 cpm no homem, porcos, gatos e cães (SARNA, 1986; EL-SHARKAWY, 1983). Sarna (1991a) propôs que a frequência das contrações de curta duração no homem e no cão varia de 2-13 cpm e 4-6 cpm, respectivamente. Já a frequência das contrações de longa duração, em ambas as espécies, varia entre 0,5 e 2 cpm. Nesse sentido, as contrações estão diretamente associadas à ECA para frequências menores do que 12 cpm e ao CEC para frequências acima de 12 cpm, onde grupos de atividade elétrica estão associados geralmente a uma única contração (HUIZINGA & DANIEL, 1986). No cão a classificação da frequência contrátil colônica mais tradicional, define dois perfis com valores altamente variáveis: baixas e altas frequências (HUIZINGA & DANIEL, 1986). Baixas frequências, entre 4 e 6 cpm, registradas na camada circular e altas frequências, entre 15 e 20 cpm, obtidas na camada longitudinal, foram relatadas por vários autores (KEEF et al., 1992, 2002; LANGTON et al., 1989; SABOURIN; KINGMA; BOWES, 1990; SMITH; REED; SANDERS, 1987). Outros estudos consideraram que frequências menores do que 3 cpm são registros espúrios e relacionados ao baixo espectro de frequência do ruído biológico no cólon (STODDARD, et al., 1979). Alguns grupos sugeriram apenas as baixas frequências entre 7 e 9 cpm (FIORAMONTI et al., 1980a) e entre 3 e 4 cpm (SHEARIN; BOWES; KINGMA, 1978) como sendo realmente produzidas pelo cólon, enquanto frequências da ordem de 18-19 cpm seriam artefatos produzidos pelo intestino delgado, pela respiração ou ainda harmônicos dos ritmos mais lentos.

Os padrões de motilidade do cólon também são dependentes do estado prandial. Nesse contexto, merece destaque a resposta colônica à alimentação, pois a contratilidade aumenta por longos períodos e o fenômeno abrange tanto o estômago quanto o intestino (SARNA, 1991b). Os diferentes estudos da resposta colônica à

refeição, investigada em cães, produziram resultados contraditórios (FIORAMONTI & BUENO, 1983; FLOURIE et al., 1989; SARNA & LANG, 1989; SETHI & SARNA, 1995).

Drogas com potencial pró-cinético, como a eritromicina, têm também despertado muito interesse e uma numerosa quantidade de trabalhos enfocou sua atuação no TGI superior (ITHO et al., 1984; MATHIS & MALBERT, 1995). A eritromicina (EM) é um antibiótico macrolídeo que induz efeitos similares aos da motilina no aumento da atividade contrátil do TGI (FEIGHNER et al., 1999). Os efeitos pró-cinéticos da EM no TGI superior, dependem da dose administrada, embora seus mecanismos de ação ainda não estejam completamente esclarecidos (COULIE et al., 1998; SARNA et al., 1991). Os efeitos da EM sobre a motilidade colônica ainda são discrepantes (CHIEPA et al., 2000).

Os métodos manométricos tradicionais, empregando dispositivos como balões e cateteres de perfusão de água, são muito invasivos, podendo interferir e influenciar os eventos mecânicos (AZPIROZ & MALAGELADA, 1985; HUIZINGA & DANIEL, 1986). Particularmente, os registros mecânicos do cólon constituem-se em um problema, devido à presença de conteúdos semi-sólidos no lúmen, que podem interferir, por exemplo, com registros de pressão (HUIZINGA & DANIEL, 1986). Além de demandarem limpeza colônica (SARNA & LANG, 1989), os resultados dos estudos manométricos com cateteres perfundidos não têm boa correlação com os transdutores de pressão “*strain-gauge*”, pois parecem detectar apenas as contrações oclusivas (SARNA, 1991a). Outro aspecto que dificulta a avaliação dos padrões motores, empregando-se técnicas convencionais, é o acesso aos segmentos proximais do cólon em razão de sua forma e posição anatômicas,

complicando a utilização de métodos que empregam radiação ionizante e tornando extremamente desconfortáveis os que demandam a utilização de sondas.

Transdutores de pressão “*strain-gauges*” implantados na serosa das alças intestinais constituem-se no método mais utilizado, embora apresentem desvantagens, como uma possível insensibilidade a pequenas contrações (HUIZINGA & DANIEL, 1986). Cães com “*strain-gauges*” implantados cronicamente na serosa são o método de escolha para estudos de motilidade colônica, porque podem detectar e permitir o registro da atividade do órgão inteiro, sem preparação prévia (SARNA & LANG, 1989). As outras técnicas tradicionalmente utilizadas na prática clínica para determinar o esvaziamento gástrico e o tempo de trânsito gastrintestinal, como a cintilografia e as radiografias seriadas com marcadores radiopacos, são semi-quantitativas, apresentam baixa resolução espacial e demandam elevadas doses de radiação ionizante (CAMILLERI & FORD, 1998).

Em razão do conhecido acoplamento da atividade elétrica com a motora, nos músculos intestinais, a eletromiografia (EMG) tem sido estudada na tentativa de maior entendimento da motilidade intestinal. As medidas das atividades elétricas fornecem informações sobre os potenciais elétricos propagados na musculatura gastrintestinal e que podem culminar em contrações, dependendo do acoplamento eletromecânico. As EMGs agrupam-se de acordo com o local de posicionamento dos eletrodos: a) serosa do músculo liso, por meio de implantação crônica do eletrodo; b) mucosa do órgão, por meio da passagem intraluminal dos eletrodos e c) superficiais, por meio da colocação cutânea dos eletrodos, como na eletrogastrografia (EGG). O formato das ondas obtido pela EMG também depende da configuração com que os eletrodos são dispostos, ou seja, na forma monopolar ou bipolar. Tecnicamente, a

implantação de eletrodos na serosa não interfere com a fisiologia normal do órgão e os eletromiogramas assim obtidos são menos susceptíveis às interferências e artefatos (SUNSHINE et al., 1989). Devido à ínfima magnitude do sinal elétrico do TGI, em relação ao cardíaco, um minucioso trabalho de filtros deve ser efetuado antes e depois da digitalização dos sinais para eliminar esses ruídos dos registros (REDDY; COLLINS; DANIEL, 1987).

Considerando o estômago, a eletrogastrografia, já proporciona subsídios para a compreensão da atividade de contração gástrica (PARKMAN et al., 2003; QIAN; PASRICHA; CHEN, 2003). No entanto, medidas de potencial de superfície no cólon ainda esbarram em uma série de dificuldades, em decorrência, principalmente, da baixa intensidade e complexidade dos sinais, o que prejudica avaliação e padronização adequadas (CHEN; SCHIRMER; McCALLUM, 1993). Aparentemente, a frequência e a amplitude da ECA e do CEC dependem de certos estímulos e na ausência destes, podem tornar-se indistinguíveis dos ruídos registrados (HUIZINGA & DANIEL, 1986). Além disso, medidas de potenciais de superfície não se restringem as atividades de uma única região e o registro de fenômenos elétricos do cólon é altamente dependente do lugar de registro (SMITH; REED; SANDERS, 1987). Estudos eletromiográficos do cólon de cães foram correlacionados com pressão intraluminal registrada por transdutores externos conectados a cateteres perfundidos (FLOURIE et al., 1989), bem como, com os dados obtidos com transdutores de pressão “*strain-gauge*” colocados diretamente na serosa (COOK et al., 1988; SARNA, 1986). A associação entre esses métodos propiciou um maior entendimento a respeito da relação entre a atividade elétrica (ECA e CEC) e a mecânica (contrações) (SARNA, 1991a). No entanto, apesar dos

avanços obtidos por meio das metodologias disponíveis para o estudo da motilidade gastrointestinal, ainda persistem contradições na avaliação da motilidade colônica tanto no homem, como no cão (EL-SHARKAWY, 1983; RAE et al., 1998).

O biomagnetismo tem se apresentado como um modelo alternativo às metodologias vigentes, despontando como uma ferramenta promissora e em expansão para estudos da motilidade do TGI. A técnica de Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) emprega um sensor magnético formado por dois conjuntos de bobinas, sendo cada conjunto composto de uma bobina excitadora e outra detectora. O arranjo gradiométrico de primeira ordem consiste no uso de duas bobinas em série, separadas por uma distância denominada linha de base, e enroladas em sentidos contrários de modo que os fluxos magnéticos concatenados em cada bobina sejam subtraídos, eliminando os ruídos ambientais e tornando-as mais sensíveis (MIRANDA et al., 1992). O sensor, disposto em um arranjo coaxial, permite que a bobina detectora seja interna e a excitadora externa. Materiais ferromagnéticos apresentam alta susceptibilidade magnética (χ), ou seja, respondem intensamente à aplicação de um campo magnético. As ferritas (MnFe_2O_4), por exemplo, possuem baixa condutividade elétrica e alta susceptibilidade magnética (χ). Frequentemente, os materiais ferromagnéticos, quando empregados em medidas biomédicas, são agrupados em marcadores ou traçadores magnéticos, de acordo com a sua forma de apresentação. Os traçadores magnéticos são definidos como partículas de material magnético dispersas em um meio, enquanto nos marcadores as partículas estão contidas em uma forma farmacêutica sólida, como comprimidos ou cápsulas (CORÁ et al., 2003). Além disso, fragmentos maiores, sólidos de ferrita podem, também, ser considerados excelentes marcadores magnéticos. A ferrita é um material

inerte que quando submetido a testes físico-químicos não teve suas propriedades modificadas na presença de ácido ou de base (CORÁ et al., 2006b). Quando nenhum material com essas propriedades magnéticas encontra-se próximo do sensor, este permanece balanceado e nenhuma voltagem é detectada. Porém, a aproximação de qualquer material magnético provoca um desbalanceamento do fluxo magnético, devido a uma maior concatenação desse fluxo sobre a bobina detectora mais próxima, e produz uma força eletromotriz (*fem*) de saída proporcional à massa e à distância entre o material e o sensor. Essa *fem* pode ser medida, digitalizada e adquirida continuamente com o auxílio de um amplificador sensível à fase "Lock-in", uma placa analógico/digital e um computador. É possível acompanhar a atividade motora de contração através da BAC, uma vez que o sinal detectado por essa técnica é altamente dependente da distância e muda seu perfil conforme a distância entre o material magnético e o sensor. Por princípio, as contrações mecânicas afastam o material do sensor posicionado na superfície abdominal, reduzindo a *fem* registrada. Do mesmo modo, o relaxamento aproxima o marcador magnético dos sensores, o que, conseqüentemente, aumenta a detecção da *fem*. A fixação de um marcador magnético à serosa do TGI constitui-se em uma abordagem inédita e possibilita o registro direto dos movimentos da parede do tubo digestivo, ou seja, das contrações.

A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) merece destaque pelos bons resultados obtidos nas comparações com as técnicas padrão em estudos de esvaziamento gástrico (MIRANDA et al., 1992), tempo de trânsito orocecal (BAFFA et al., 1995), tempo de trânsito esofágico (DAGHASTANLI et al., 1998), tempo de trânsito faríngeo (MIQUELIN et al., 2001), atividade contrátil do estômago no homem (AMÉRICO et al., 2007; MIRANDA et al., 1997) e em cães (MORAES et

al., 2003), distribuição intragástrica de refeições (AMÉRICO et al., 2007), motilidade colônica no homem (ROMEIRO et al., 2006) e a desintegração de comprimidos magnéticos (CORÁ et al., 2003, 2006a). As vantagens da BAC sobre as demais técnicas consistem, basicamente, na ausência de radiação ionizante, no fato de não ser invasiva, apresentar baixo custo, boa relação sinal/ruído e portabilidade. No cão, as dimensões do sistema de BAC também permitem detectar simultaneamente as atividades motoras do estômago e do cólon proximal, possibilitando análises comparativas e de superposição pouco exploradas entre eles (AMARIS et al., 2002).

Muitos modelos diferentes foram utilizados para monitorar a motilidade colônica, porém, a comparação entre os resultados é muito difícil (COOK et al., 1988; HUIZINGA & DANIEL, 1986). É imprescindível o desenvolvimento de novos modelos menos invasivos, acurados e de baixo custo capazes de melhor estudar essas inter-relações e discrepâncias, seja no estado funcional normal, após determinados estímulos ou nas alterações decorrentes de doenças como a síndrome do intestino irritável, diarreia funcional, constipação crônica e colite ulcerativa (HUTCHINSON et al., 1995; WINGATE et al., 2002). Além disso, o novo modelo deve permitir a aquisição de conhecimentos específicos sobre a atividade motora de cada segmento do TGI, pois os padrões motores, normais ou patológicos, podem variar entre os segmentos. Nesse sentido, a utilização de metodologia com animais de experimentação é de grande relevância para o avanço do conhecimento científico, fisiológico, farmacológico, médico e veterinário do TGI.

A BAC associada à eletromiografia, com registros obtidos por meio de marcadores magnéticos e eletrodos, implantados no mesmo ponto da serosa, pode

tornar-se um modelo experimental capaz de trazer grandes contribuições para o entendimento dos fenômenos elétricos e mecânicos do TGI. A comparação entre os dados obtidos pelas duas técnicas permitirá, também, corroborar a BAC como uma inovadora metodologia capaz de avaliar a motilidade gastrintestinal, especialmente a atividade contrátil colônica, em cães.

OBJETIVOS

"Quem quiser alcançar um objetivo distante tem que dar muitos passos curtos."

Helmut Schmidt

2. OBJETIVOS

- Demonstrar a capacidade do método magnético (BAC) de registrar a contração gastrointestinal por meio de implantação de marcador magnético na serosa de cães;
- Validar o método pela comparação de seus resultados com os obtidos por meio de eletromiografia (EMG);
- Demonstrar o potencial do método para o estudo das respostas de drogas a diferentes doses de eritromicina sobre as motilidades do cólon e do estômago;

MATERIAIS E MÉTODOS

"Quando você tem uma meta, o que era
um obstáculo passa a ser uma
das etapas do seu plano."

Gerhard Erich Boehme

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo experimental utilizado nesse trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal do Instituto de Biociências de Botucatu - Universidade Estadual Paulista (UNESP). Os experimentos foram realizados no Departamento de Física e Biofísica do Instituto de Biociências (UNESP-Botucatu). Os procedimentos cirúrgicos foram realizados em ambiente estéril gentilmente cedido pelo Departamento de Cirurgia e Ortopedia da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP).

3.1. Animais

Sete cães, fêmeas, da raça Beagle, pesando entre 9 e 12 Kg foram adquiridas junto ao Biotério da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e declarados isentos de doenças físicas e infecto-contagiosas por um médico veterinário. Antes e depois do procedimento cirúrgico aplicado, os animais foram mantidos no biotério do Laboratório de Biomagnetismo, em baias individuais. Após um período de adaptação de 10 dias recebendo ração comercial (Kanina® - Purina) e água *ad libitum*, os cães foram submetidos à implantação, na serosa, de conjuntos compostos por um eletrodo e um marcador magnético. Cada animal permaneceu no laboratório por 45 dias após a cirurgia realizando os experimentos. Após esse período, os fios dos eletrodos foram cortados e os pontos por onde se exteriorizavam cicatrizaram, enquanto os marcadores magnéticos permaneceram implantados. Cerca de dois meses depois do procedimento cirúrgico, os animais foram doados em perfeitas condições de saúde.

3.2. Implantação cirúrgica de eletrodos e marcadores magnéticos

A cirurgia de implantação de eletrodo e marcador magnético foi sempre precedida de 12 h de jejum alimentar e 3 h de restrição hídrica, além de cuidadosa tricotomia da região ventral do abdome. Os cães, após serem anestesiados com pentobarbital sódico (30 mg/Kg, IV), foram colocados em decúbito dorsal em uma mesa tipo calha e submetidos à laparotomia mediana com incisão, de aproximadamente 5 cm, para implantação dos conjuntos de eletrodo e marcador magnético na camada serosa do cólon ascendente.

Um eletrodo tipo marcapasso cardíaco (Ethicon[®], Johnson & Johnson) (Fig. 1) e um fragmento de marcador magnético ($MnFe_2O_4$) pesando aproximadamente 0,8 g, com diâmetro de 1,0 cm e espessura de 0,04 cm, foram fixados em um mesmo ponto (Fig. 2). A implantação, de cada conjunto de eletrodo/marcador magnético, seguiu dois protocolos distintos: a) apenas dois conjuntos, distantes 5 cm um do outro, e fixados na serosa colônica, sendo que o primeiro conjunto foi colocado a 3 cm da junção íleo-cecal; b) além dos dois conjuntos colônicos, um terceiro conjunto foi implantado no estômago distal.

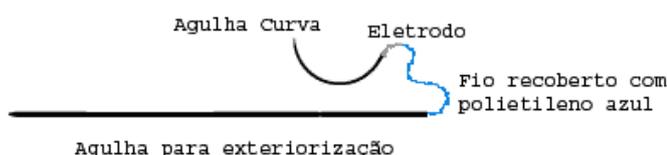


Figura 1: Ilustração do eletrodo implantado na serosa.



Figura 2: Dois fragmentos de marcadores magnéticos com aproximadamente 0,8g cada antes da implantação.

O procedimento cirúrgico encontra-se ilustrado na seqüência de fotos apresentada nas Figuras 3-11. Para garantir uma comparação efetiva entre os resultados das duas técnicas, sobre cada marcador magnético fixou-se um eletrodo, exatamente no mesmo ponto da serosa. Os marcadores magnéticos eram envolvidos pela serosa do cólon proximal por meio de uma sutura em bolsa, sendo que o fio do eletrodo era utilizado para arrematar firmemente essa sutura por meio de um nó. A inserção do eletrodo era feita por meio de uma agulha curva, que, em seguida, era cortada. Os fios dos eletrodos foram exteriorizados através da parede abdominal, as agulhas para exteriorização foram cortadas para evitar riscos desnecessários aos animais e a incisão foi fechada por planos. A seguir, foi aplicado curativo compressivo. Durante a recuperação da cirurgia, os cães eram vestidos com uma roupa apropriada e os fios dos eletrodos fixados nessa roupa com esparadrapo. Todos os animais recuperaram-se rapidamente após a cirurgia e retomaram suas atividades normais, embora tenham permanecido com um dispositivo limitador de movimentos cefálicos (colar elizabetano), para impedir seu acesso às feridas cirúrgicas e aos fios exteriorizados.

O curativo foi removido após o 3º dia, enquanto a limpeza da ferida continuou a ser efetuada com iodo até a completa cicatrização. Além disso, os animais receberam antibiótico profilático (Amoxicilina - 500 mg) durante os 7 dias após a cirurgia. Ao final desse período foram avaliados por um médico veterinário e considerados aptos para as sessões de medidas. Vale ressaltar que durante todo esse período de recuperação as evacuações desses animais foram normais, ocorrendo, geralmente, uma ou duas vezes ao dia.

Cada animal permaneceu no laboratório por 45 dias após a cirurgia realizando experimentos que intercalaram protocolos com anestesia e sem anestesia. Após esse período, os fios dos eletrodos foram cortados e os pontos por onde se exteriorizavam cicatrizaram, enquanto os marcadores magnéticos permaneceram implantados. Cerca de dois meses depois do procedimento cirúrgico, os animais foram doados em perfeitas condições de saúde.



Figura 3: Cão anestesiado com pentobarbital (IV), tricotomizado e posicionado na calha antes do início da cirurgia.

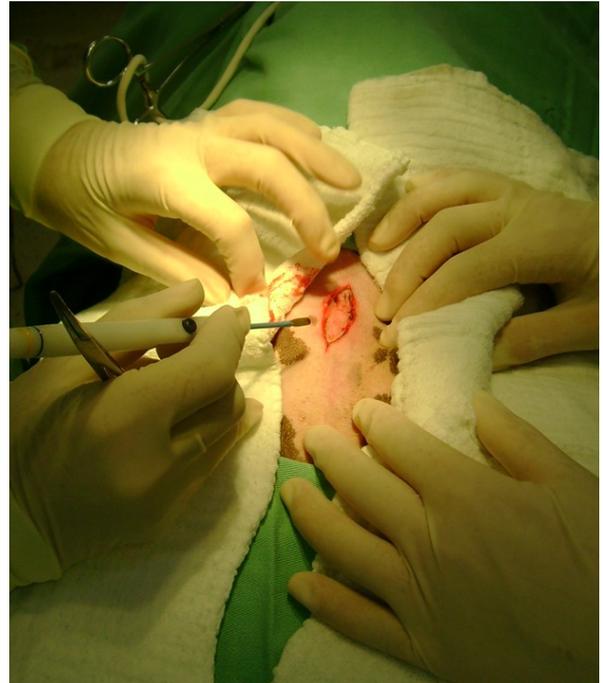


Figura 4: Incisão medial de aproximadamente 5 cm no início do procedimento cirúrgico empregando bisturi elétrico.

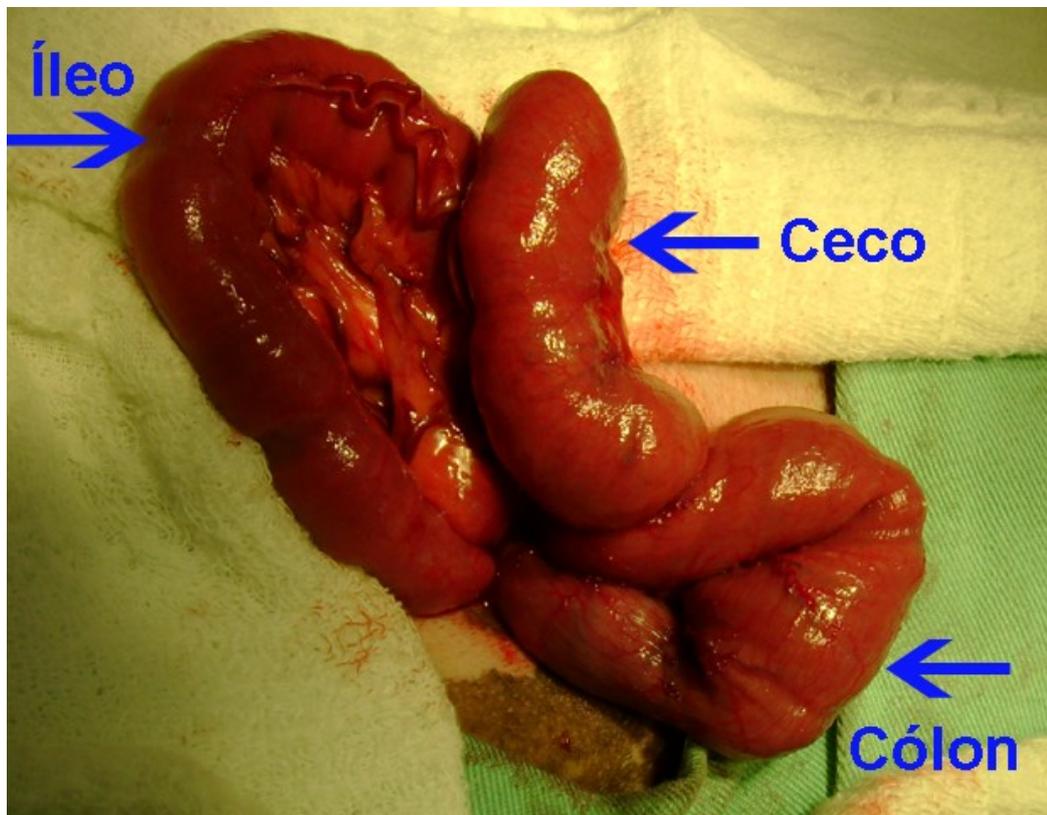


Figura 5: Apresentação dos segmentos intestinais de interesse para localização da região colônica ascendente.

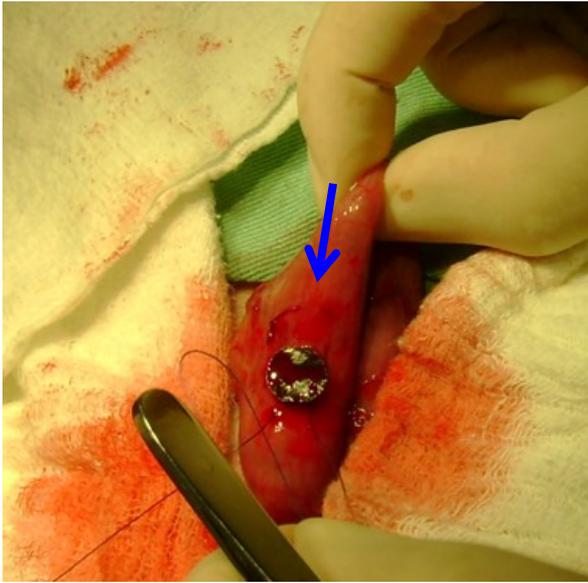


Figura 6: Sutura em forma de bolsa para fixação do marcador magnético na serosa colônica.

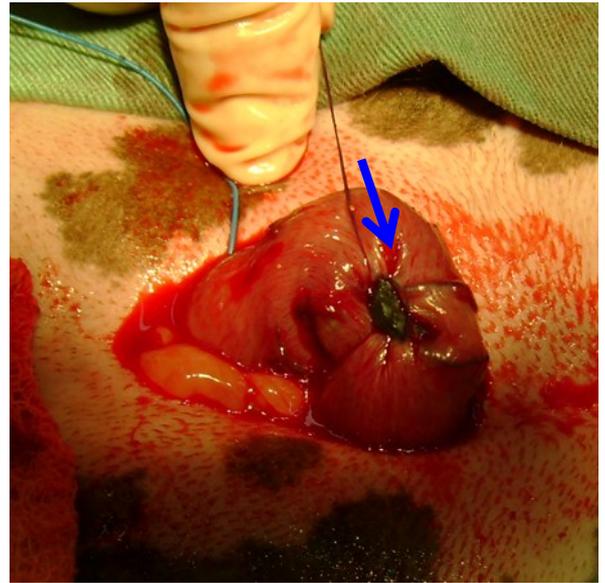


Figura 7: Cólon antes do fechamento completo da sutura, sendo possível visualizar o marcador.

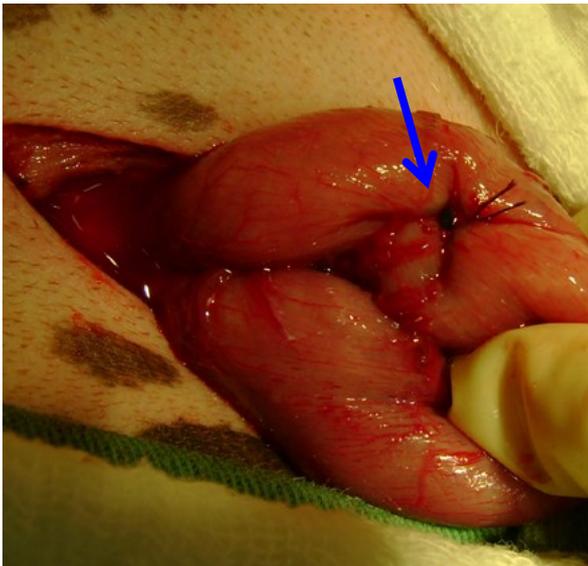


Figura 8: Cólon proximal após o fechamento completo da sutura e fixação do marcador magnético.



Figura 9: A agulha curva foi cortada após o nó do eletrodo para a completa oclusão do marcador.

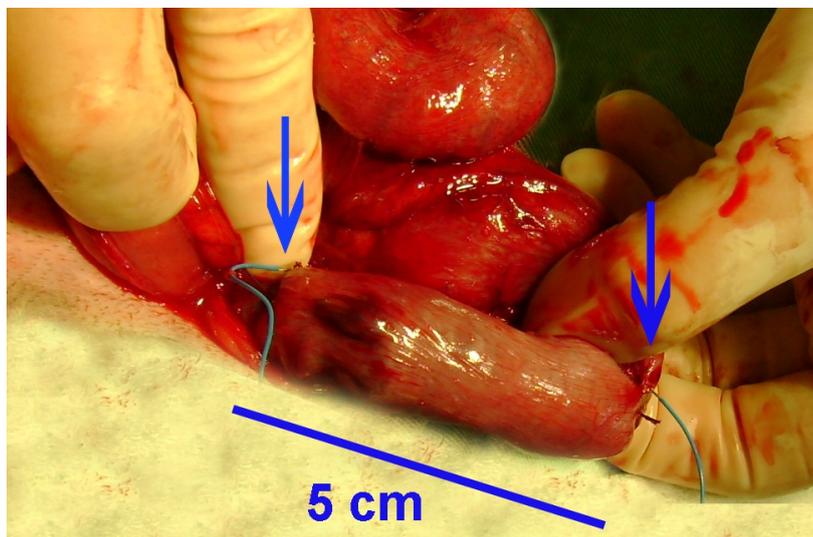


Figura 10: Exposição do segmento proximal do cólon, após a implantação do segundo conjunto (marcador magnético e eletrodo).



Figura 11: Sutura externa após o final da cirurgia e apresentação dos fios exteriorizados, em que o mais proximal à sutura refere-se ao conjunto situado mais próximo do ceco.

Um dos animais foi submetido a um exame por raio X abdominal. Na radiografia, os marcadores magnéticos são claramente visualizados, assim como os fios dos eletrodos (Fig. 12).

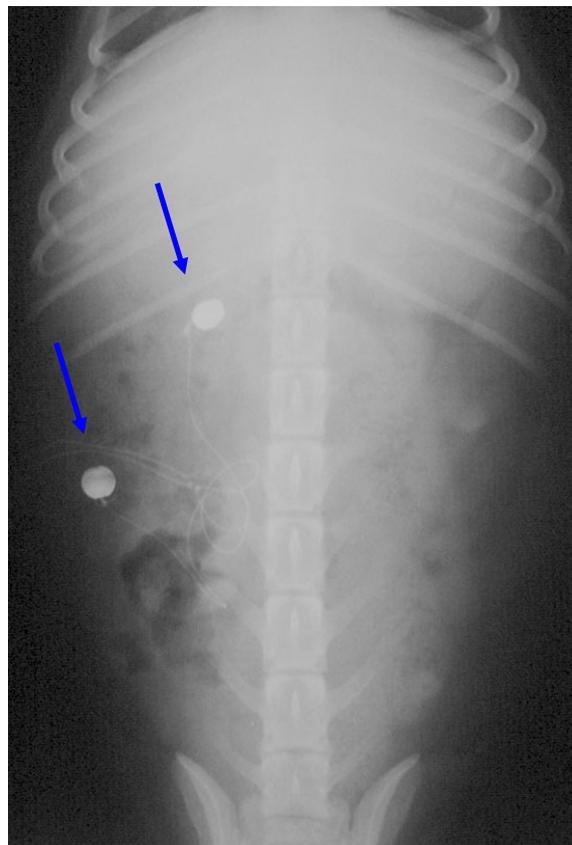


Figura 12: Radiografia de abdome de um dos animais implantados onde é possível observar os dois marcadores magnéticos.

3.3. Delineamento experimental

Os procedimentos realizados, e agrupados em quatro protocolos para avaliar a motilidade gástrica e colônica, estão delineados na Figura 13. Utilizando cães anestesiados foram testadas as ações das drogas: **(A)** prostigmina[®] e buscopan[®]; e **(B)** eritromicina nas doses de 0,4, 2,0 e 10,0 mg/Kg. Utilizando animais acordados **(C)** foram testados os efeitos de uma refeição padronizada em 350 Kcal. Implantes de conjuntos de eletrodo/marcador magnético no cólon e no estômago **(D)** foram empregados para validar a BAC e para avaliar a interferência elétrica e mecânica da atividade gástrica sobre a colônica e vice-versa.

Cada um dos protocolos empregando anestésico foi separado por um intervalo mínimo de uma semana, já que o uso continuado do pentobarbital pode levar ao óbito. Os cães foram colocados em uma mesa tipo calha e anestesiados com pentobarbital sódico (30 mg/Kg, IV). O plano anestésico consistiu de administração de 70% da dose total calculada, seguida dos preparativos para o início do experimento (ligação dos eletrodos aos cabos e posicionamento da BAC) e da administração dos 30% restantes. Cerca de 1 minuto após a finalização do plano anestésico as sessões de medida eram iniciadas. O acesso venoso foi obtido com cateter (23 gauge) na pata dianteira e mantido com solução fisiológica em gotejamento lento, durante toda a sessão de medida, para a administração das drogas.

A – Prostigmina[®] e Buscopan[®]

Registros dos animais foram adquiridos continuamente durante 40 minutos. A injeção de 1,0 ml de Prostigmina[®] (Metilsulfato de Neostigmina; 0,5 mg/ml) *in bolus* ocorreu ao final do 10º minuto no acesso venoso e 1,0 ml de Buscopan[®] (N-butil-Escopolamina; 20 mg/ml) foi injetado, também *in bolus*, ao final do 22º minuto.

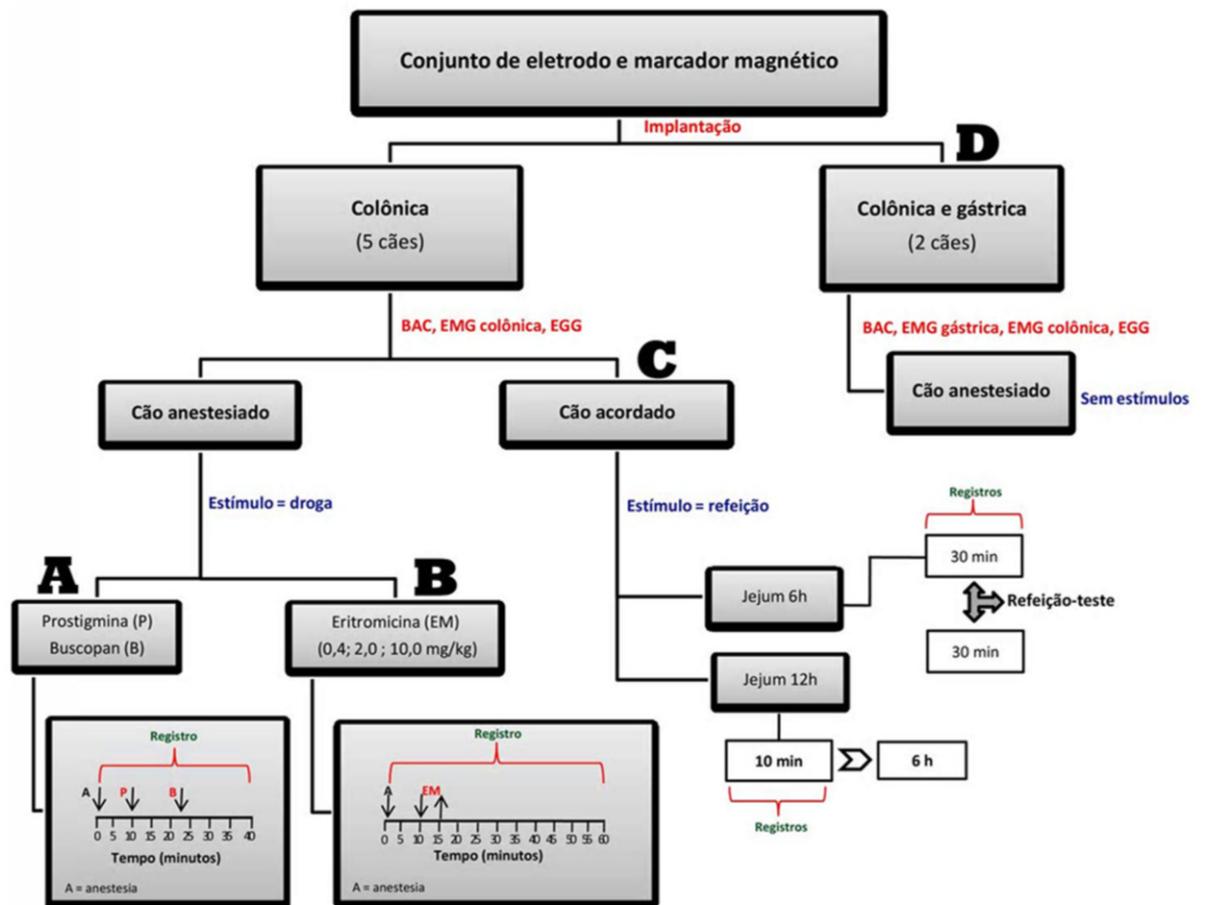


Figura 13: Delineamento dos experimentos agrupados em quatro protocolos principais.

B – Eritromicina (EM)

Para estudar o efeito da EM sobre a motilidade do TGI em cães foram realizados estudos em ordem randomizada com três diferentes doses: 0,4 mg/Kg, 2,0 mg/Kg e 10,0 mg/Kg (IV). Neste trabalho utilizou-se o Tromaxil[®] (lactobionato de eritromicina) fabricado por CURASAN-AG (Kleinstheim, Germany; importado e distribuído no Brasil por OPEM Representação Importadora Exportadora e Distribuidora Ltda – São Paulo, que gentilmente doou o fármaco). Essa substância é um sal solúvel que libera a molécula básica de EM em solução, sendo que cada miligrama de lactobionato de eritromicina corresponde a 0,6 mg de eritromicina. A solução de lactobionato de eritromicina era preparada pouco antes do início dos experimentos, por meio de diluição em soro fisiológico, na razão de 1,5 mg/mL. Foram efetuados os registros dos animais em condições basais, durante 15 minutos, e logo após foi administrada a eritromicina, em infusão lenta durante aproximadamente 5 minutos. Após a administração da EM os registros continuaram por pelo menos 1h.

C – Animais acordados

Os cães foram treinados para permanecerem parados em decúbito dorsal em uma mesa tipo calha por aproximadamente 30 minutos (Fig. 14). Dois protocolos foram adotados utilizando esse treinamento: a) Registro de 30 minutos após jejum de 6h e de mais 30 minutos após a ingestão de uma refeição teste padronizada; b) Registro de 10 minutos efetuado após jejum de 12h e repetição de hora em hora após uma refeição teste padronizada, durante um período total de 6h. A refeição padronizada era composta por 100g de pedaços de carne ao molho (Pedigree[®] - Waltham, contendo: 81% de umidade; 8% de proteína bruta; 5% de extrato etéreo;

2% de matéria fibrosa; 2,5% de matéria mineral; 0,4% de cálcio e valor energético de 350 Kcal) e foi ingerida dentro de no máximo 5 minutos.



Figura 14: Animal posicionado na calha para os experimentos sem anestesia.

D – Implante simultâneo de conjuntos no cólon e no estômago

Dois animais foram submetidos à cirurgia, em que foram implantados conjuntos idênticos de eletrodo e marcador magnético no cólon e no estômago distal. Esse estudo compreendeu seis experimentos e pretendeu comparar os registros simultâneos obtidos pela BAC e pela EMG, em um mesmo ponto do estômago, e corroborar a capacidade da BAC em registrar a atividade de contração gastrointestinal. Também foi examinada uma possível interferência da atividade gástrica sobre o registro colônico e vice-versa, bem como comparados os registros

dos eletrodos implantados no estômago com o EGG superficial realizado simultaneamente.

3.4. Aquisição de sinais

As Figuras de número 15 a 17 ilustram o esquema geral de aquisição dos registros respiratório, elétrico e magnético. O detector respiratório, colocado em uma das narinas, era um transdutor tipo termopar, sensível às mudanças da temperatura do ar. Os registros respiratório, elétrico e magnético foram digitalizados na frequência de 20 Hz por canal, utilizando uma placa analógico/digital (MP100, Biopac Systems Inc.) conectada a um computador. Os dados foram arquivados em formato ASCII para posterior análise em ambiente MatLab (MathWorks Inc.).

3.5. Sistema para medidas magnéticas (BAC)

Neste trabalho, o sistema de BAC utilizado apresenta uma bobina de excitação e sete outras de detecção, arranjadas de forma concêntrica. Os sete sensores foram agrupados de forma tal que seis sensores ficaram dispostos nos vértices de um hexágono imaginário e um no centro deste (Fig. 17). Esse sistema foi fixado em um suporte cilíndrico de PVC e posicionado sobre a projeção abdominal dos cães para registrar sinais provenientes dos marcadores magnéticos implantados cirurgicamente (Fig. 16). A aquisição em sete pontos diferentes proporciona um mapeamento razoável da distribuição dos sinais nestas áreas. Um mapeamento realizado com apenas um sensor de BAC permitia localizar na parede abdominal os marcadores magnéticos implantados para o correto posicionamento do sistema magnético.

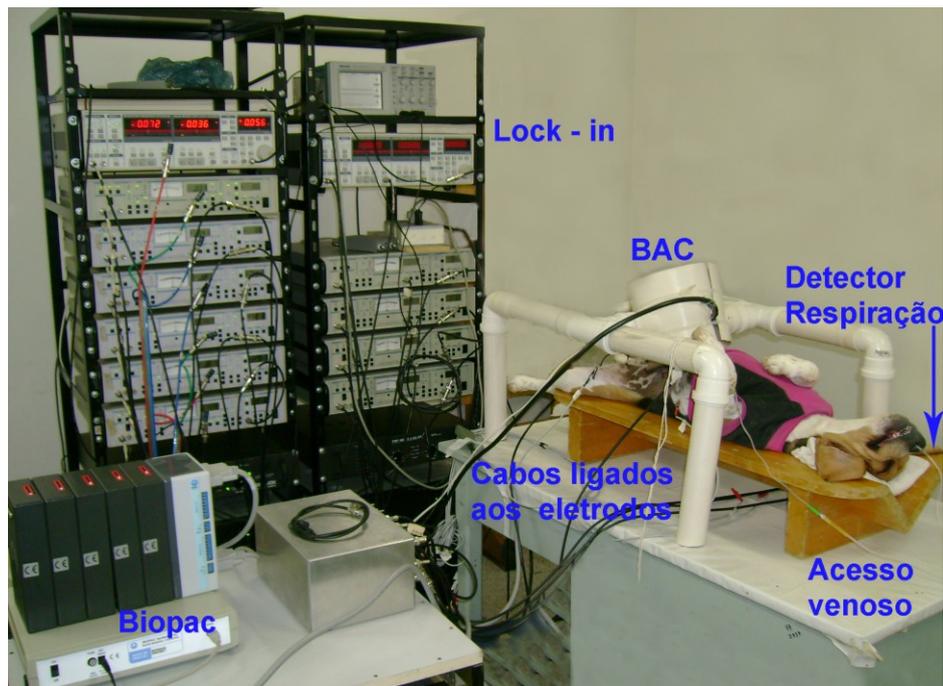


Figura 15: Aparato para o registro de sinais elétricos, magnéticos e respiratórios.

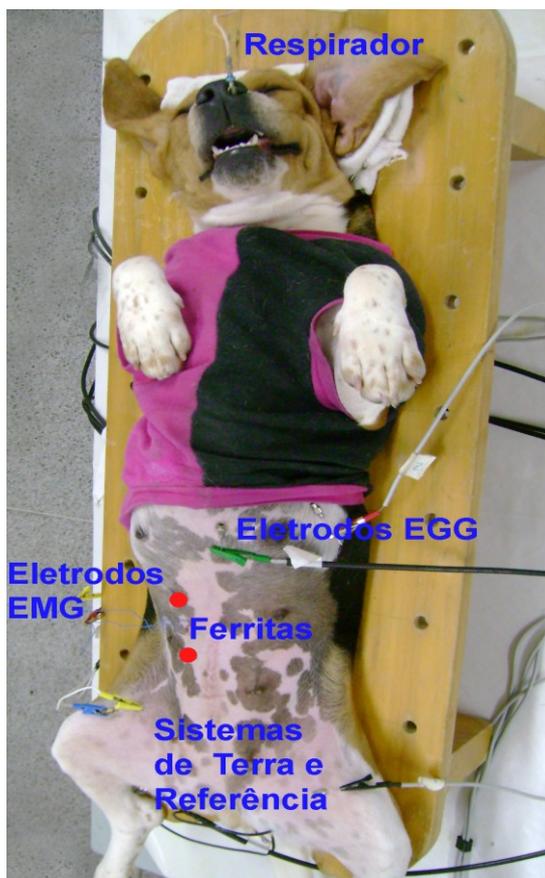


Figura 16: Detalhe dos eletrodos antes do posicionamento do sistema de BAC. Mapeamento prévio era marcado na pele (vermelho) para auxiliar no posicionamento da BAC.

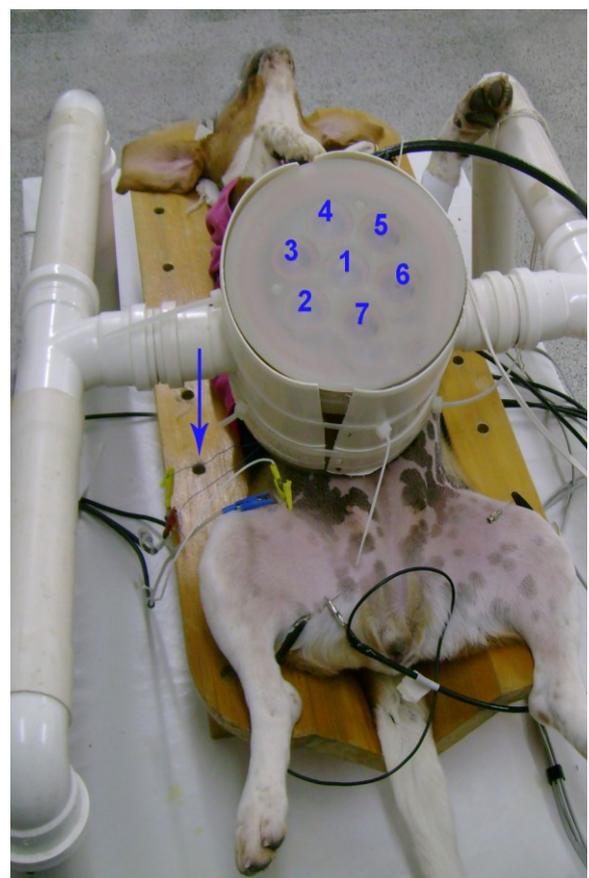


Figura 17: Posicionamento da BAC com 7 sensores e dos eletrodos colônicos. A seta azul mostra os fios exteriorizados dos eletrodos implantados no cólon e conectados aos cabos.

3.6. Sistema para medidas da atividade mielétrica (EMG)

Um sistema para registrar sinais eletromiográficos foi desenvolvido no próprio laboratório para proporcionar uma flexibilidade de parâmetros que geralmente não pode ser obtida nos equipamentos convencionais. O sistema de registro mielétrico utilizado nesse estudo está representado pelo diagrama de bloco apresentado na Figura 18. O sistema de EMG empregou um amplificador diferencial (A.D.) – modelo 623 – capaz de registros do tipo monopolar ou bipolar. A configuração monopolar foi selecionada para todos os experimentos, visto que a comparação com o marcador magnético, implantado no mesmo ponto, era almejada. Outros componentes utilizados foram, sequencialmente, um filtro “passa-alta” (P.A.) de 0,005 Hz e um filtro tipo Butterworth “passa-baixa” (P.B.) de 3 Hz antes da digitalização.

Paralelamente, também foi registrado o EGG pelo sistema Biopac com filtro “passa-banda” de 0,005 - 1 Hz e ganho de 1000, por meio de eletrodo superficial colocado na parede anterior abdominal na projeção do estômago.

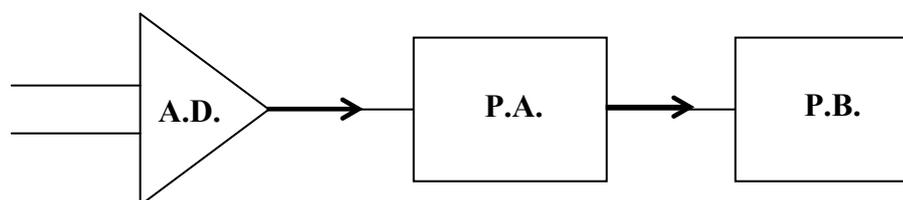


Figura 18: Diagrama de bloco do sistema utilizado para registros mielétricos, apresentando um amplificador diferencial (A.D.), um filtro “passa-alta” (P.A.) e um filtro “passa-baixa” (P.B.).

3.7. Processamento de Sinais

Um sinal pode conter informações sobre o estado ou sobre o comportamento de um sistema, sendo que a melhor técnica para extraí-las depende do tipo de sinal e da natureza dos dados que ele carrega (OPPENHEIM; SHAFER, 1999).

Nesse trabalho, a análise dos sinais foi realizada com ampla flexibilidade de parâmetros e totalmente no ambiente MatLab. Todos os dados foram submetidos a uma avaliação inicial, que consistiu na inspeção visual dos sinais originais, ou seja, sem qualquer tipo de filtragem e projetados em termos da intensidade em função do tempo. Nessa análise, os perfis dos múltiplos sensores posicionados sobre o abdome do animal foram comparados de modo espacial e temporal e separados em região colônica e região gástrica. Uma vez determinados os sensores de BAC correspondentes à região colônica esses sinais mecânicos foram comparados aos sinais elétricos (EMG). Uma análise comparativa também foi efetuada entre os sensores correspondentes ao estômago e o EGG adquirido.

Para a análise de dados temporais foi utilizada a Transformada Rápida de Fourier (FFT), que transforma um sinal no domínio do tempo em um sinal no domínio da frequência e vice-versa sem nenhuma perda de informação. A análise espectral ou RSA (*Running Spectrum Analysis*) foi empregada para verificar frequência do sinal e sua potência no decorrer do tempo de medida (REDDY; COLLINS; DANIEL, 1987).

Um filtro tipo Butterworth de ordem 3 foi utilizado para selecionar, com pouca ou nenhuma atenuação, determinados componentes de frequência e rejeitar ou remover todas os outros componentes indesejáveis de um sinal. Interferências causadas por artefatos respiratórios, ruídos ambientais ou mesmo por frequências de

contração de órgãos adjacentes, como o coração, podem atrapalhar a interpretação de sinais gastrintestinais. Este filtro apresenta resposta em amplitude maximamente plana e bidirecional para não causar modificação na fase do sinal (MIRANDA et al., 1992). Podem-se utilizar os seguintes tipos de filtros: “passa-baixa” (só permite a visualização de frequências abaixo de uma pré-estabelecida), “passa-altas” (só permite a visualização de frequências acima de uma pré-determinada), “passa-banda” (só permite a visualização de frequências dentro de uma faixa pré-estabelecida), “rejeita-banda” (não permite a visualização de uma faixa de frequência pré-determinada) e “passa tudo” (não altera as amplitudes dos componentes do sinal, somente sua fase). Esses tipos de filtros são de delineamento simples e podem ser associados, no intuito de realizar múltiplas seleções de frequência em um sinal. O ajuste dos filtros digitais e sua associação são muito importantes, sendo determinados, principalmente, em razão do que se deseja observar. As frequências foram expressas em hertz (Hz) e posteriormente multiplicadas por 60 para refletir também o tradicional com (ciclos por minutos).

3.7.1. Análise de frequência

Durante a inspeção visual dos registros originais elétricos e magnéticos constatou-se a existência de algumas frequências contráteis que podiam ser agrupadas por faixas e que estavam presentes em quase todos os experimentos realizados. Essas frequências foram agrupadas por meio de FFTs nas seguintes faixas: 0,02-0,035 Hz (1,2-2,1 cpm) ou baixa frequência; 0,04-0,05 Hz (2,4-3 cpm); 0,07-0,1 Hz (4,2-6 cpm) ou frequência contrátil do estômago; 0,12-0,135 Hz (7,2-8,1 cpm); 0,14-0,16 Hz (8,4-9,6 cpm); 0,18-0,2 Hz (10,8-12 cpm); 0,22-0,25 Hz (13,2-15

cpm); 0,26-0,32 Hz (15,6-19,2 cpm) ou alta frequência. Foram quantificadas apenas as frequências com incidência maior ou igual a 90% do número de estudos utilizados em cada protocolo. Assim, quantificou-se a frequência gástrica, a baixa e a alta frequência colônica, além da faixa de 0,04-0,05 Hz (2,4-3 cpm) apenas nos protocolos empregando eritromicina.

Um projeto de filtros passa-banda foi aplicado para quantificar cada uma dessas quatro faixas de frequência. Para a baixa frequência foi utilizado um filtro entre 0,01-0,035 Hz (1,2-2,1 cpm), para o estômago entre 0,06-0,1 Hz (3,6-6 cpm) e para a alta frequência entre 0,24-0,32 Hz (14,1-19,2 cpm), enquanto um projeto entre 0,035-0,055 Hz (2,1-3,3 cpm) foi aplicado para a faixa 0,04-0,05 (em torno de 3 cpm).

A quantificação das frequências foi efetuada para cada um dos seguintes períodos: a) período de controle, pós-prostigmina[®] e pós-buscopan[®] no protocolo de prostigmina[®] e buscopan[®]; b) períodos controle, EM (compreendendo a infusão de 5 minutos mais os 5 minutos logo a seguir) e período pós-droga (abrangendo os primeiros 20 minutos depois do período EM) para cada uma das três doses de eritromicina; c) durante o jejum e após a refeição teste em animais não anestesiados.

3.7.2. Análise da amplitude

As variações de amplitude, no decorrer de uma sessão de medida, foram avaliadas por um parâmetro denominado área sob a curva (AUC) ou área sob as contrações, conforme designado por alguns autores (SARNA et. al., 1991). AUC, em volts por segundo (V.s), foi calculada em intervalos de tempo de 200 segundos para cada um dos seguintes períodos: a) período de controle, pós-prostigmina[®] e pós-

buscopan[®] no protocolo de prostigmina[®] e buscopan[®]; b) períodos controle, EM (compreendendo a infusão de 5 minutos mais os 5 minutos logo a seguir) e período pós-droga (abrangendo os primeiros 20 minutos depois do período EM) para cada uma das três doses de eritromicina; c) durante o jejum e após a refeição teste em animais não anestesiados.

Inicialmente, determinou-se a AUC usando filtro “passa-banda” na frequência de 0,01-0,35 Hz (1,2-21 cpm), que foi associado dois filtros tipo “rejeita-banda” na faixa de frequência de 0,07-0,09 Hz (4,2-6 cpm) e de 0,18-0,22 Hz (10,8-13,2 cpm). Essa associação permitiu que as frequências do estômago e da respiração fossem retiradas simultaneamente do sinal. Mais tarde, os mesmos projetos de filtros descritos para a análise de frequência foram utilizados para determinar a AUC por faixa de frequência, ou seja, para a frequência gástrica, a baixa e a alta frequência, bem como para frequência de 0,04-0,05 (em torno de 3 cpm) nos experimentos empregando eritromicina.

Valores absolutos da AUC foram utilizados para apresentar os resultados dos protocolos de estudo sem anestésico e dos registros empregando Prostigmina[®] e Buscopan[®]. Já nos registros obtidos com a eritromicina foi determinada a AUC do período controle e a AUC do período após a eritromicina. Com esses valores foi calculada a taxa de variação da AUC entre o controle e o período pós-eritromicina, em porcentagem, para cada uma das três doses.

3.8. Outras abordagens

A análise do efeito da eritromicina por meio de curvas “dose-resposta” foi realizada no programa GrapPad Prism 4 usando o modelo de regressão não linear de curva dose-resposta com inclinação variável (FEIGHNER et. al., 1999). As curvas dose resposta para eritromicina foram geradas a partir da AUC para o cólon, com exclusão da frequência contrátil do estômago, amplitude colônica incluindo a frequência gástrica e amplitude apenas para a faixa de frequência gástrica. Os parâmetros determinados na curva dose-resposta corresponderam à concentração da eritromicina que produz metade do efeito máximo (EC_{50}) e à inclinação da curva.

Os intervalos de tempo entre a administração da eritromicina e o seu efeito máximo e a duração do efeito da droga sobre a contratilidade foram calculados com base nos perfis temporais médios para a BAC, a EMG e o EGG.

A comparação entre a BAC e a EMG para o registro da motilidade gástrica foi efetuada por meio de correlação temporal. Para efeito de comparação entre a BAC e a EMG no registro da motilidade colônica foram realizadas correlações lineares de frequência para as faixas mais frequentemente observadas. A correlação foi efetuada para a faixa de frequência gástrica, baixa e alta frequência, bem como para a faixa de 0,04-0,05 Hz (2,4-3 cpm). Foram realizadas correlações entre as duas técnicas para cada um dos períodos: a) período de controle, pós-prostigmina[®] e pós-buscopan[®] no protocolo de prostigmina[®] e buscopan[®]; b) período controle, período EM e período pós-droga para as três doses utilizadas, sendo que para o período controle considerou-se uma correlação média dos registros. Os sinais da EMG, obtidos pelo eletrodo implantado no estômago, foram correlacionados temporalmente àqueles obtidos pela EMG por meio de eletrodo implantado no cólon.

3.9. Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP). Os protocolos estatísticos adotados basearam-se na distribuição normal (Gaussiana) apresentada pelos dados. Para análise da correlação em frequência entre a BAC e a EMG foram calculados os coeficientes de correlação de Spearman. As correlações temporais entre os sinais elétricos e os magnéticos provenientes do estômago, bem como entre os sinais elétricos gástricos e colônicos foram obtidas através de análise uma tipo “*cross-correlation*” implementada no MatLab. O protocolo estatístico adotado foi o teste *t*-Student para duas médias dependentes que foi utilizado para determinar a significância das diferenças entre os valores médios obtidos nos períodos analisados para cada protocolo. Apenas valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes, embora valores até $p < 0,2$ tenham sido apresentados.

RESULTADOS

"Não é preciso ter olhos abertos para ver o sol,
nem é preciso ter ouvidos afiados para ouvir
o trovão. Para ser vitorioso você precisa
ver o que não está visível."

Sun Tzu

4. RESULTADOS

A – A motilidade gastrointestinal de cães anestesiados avaliada pela BAC e pelo EMG. Atividade espontânea e efeitos da Prostigmina[®] e do Buscopan[®]

A.1 – Efeitos da Prostigmina[®] e do Buscopan[®] sobre a motilidade colônica

A Figura 19 mostra exemplos de registros simultâneos da atividade colônica obtidos pela BAC e pelo EMG e divididos em períodos: controle, após administração de Prostigmina[®] e após a administração do Buscopan[®].

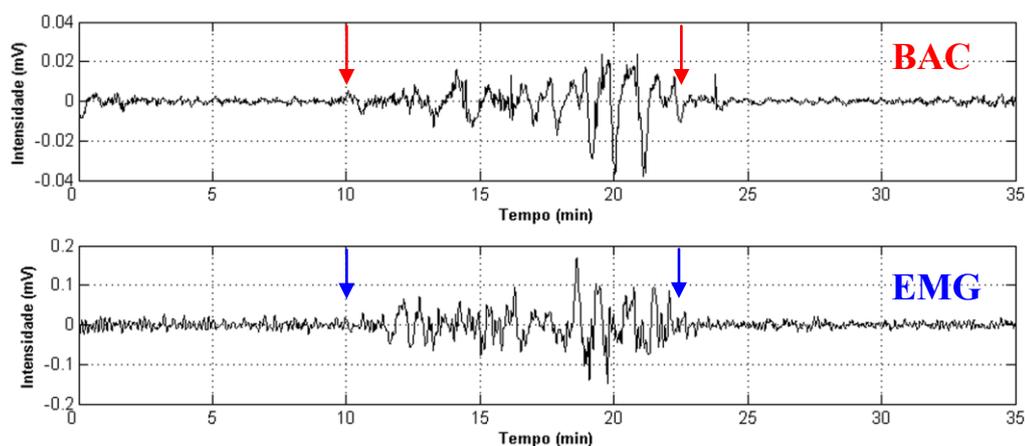


Figura 19: Registros da atividade colônica obtidos pela BAC e pelo EMG. As setas indicam, da esquerda para a direita, a administração *in bolus* da Prostigmina[®] do Buscopan[®].

A análise em amplitude, através do cálculo da área sob a contração (AUC), para os períodos definidos como controle, Prostigmina[®] e Buscopan[®], está apontada na Figura 20.

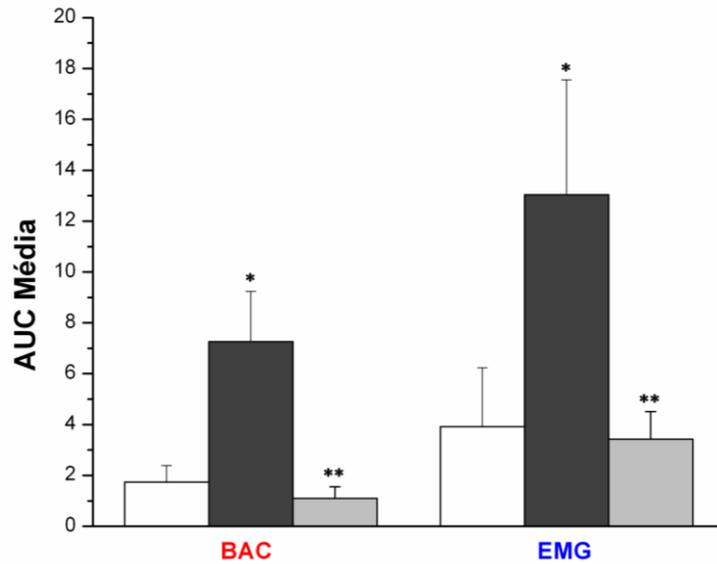


Figura 20: Amplitude dos períodos controle (□), Prostigmina[®] (■) e Buscopan[®] (■). Houve diferença significativa entre o período de controle e o de Prostigmina (* $p < 0,01$) e entre o período de Prostigmina[®] e o de Buscopan[®] (** $p < 0,01$). Os valores apresentados são as médias de resultados de 5 cães e as barras verticais indicam o desvio padrão (DP).

A Tabela 1 apresenta o perfil da atividade colônica obtida nos experimentos empregando Prostigmina[®] e Buscopan[®].

Tabela 1: Frequências contráteis encontradas no cólon de cães em experimentos empregando Prostigmina[®] e Buscopan[®] para os períodos de controle (**C**), Prostigmina (**P**) e Buscopan (**B**). Casas preenchidas indicam a presença da faixa de frequência durante o período analisado e casas brancas indicam ausência da frequência.

cão	0,02-0,035 Hz 1,2-2,1 cpm						0,04-0,055 Hz 2,4-3,3 com						0,12-0,22 Hz 7,2-13,2 cpm						0,25-0,32 Hz 15-19,2 cpm					
	BAC			EMG			BAC			EMG			BAC			EMG			BAC			EMG		
	C	P	B	C	P	B	C	P	B	C	P	B	C	P	B	C	P	B	C	P	B	C	P	B
1																								
2																								
3																								
4																								
5																								

Observa-se que contrações de frequência entre 0,02-0,035 Hz (1,2-2,1 cpm) foram registradas em todos os animais por meio da BAC e em 4 dos 5 animais por meio da EMG (Fig. 21). Essa faixa de baixa frequência foi quantificada no período controle, Prostigmina[®] e Buscopan[®] (Tabela 2) e a AUC apenas dessa faixa foi determinada (Fig. 22). Já contrações de frequência entre 0,25-0,32 Hz (15-19,2 cpm) foram registradas nos 5 animais pela EMG, mas em nenhum deles pela BAC (Fig. 23). Essa faixa foi igualmente quantificada em frequência (Tabela 3) e amplitude (Fig. 24).

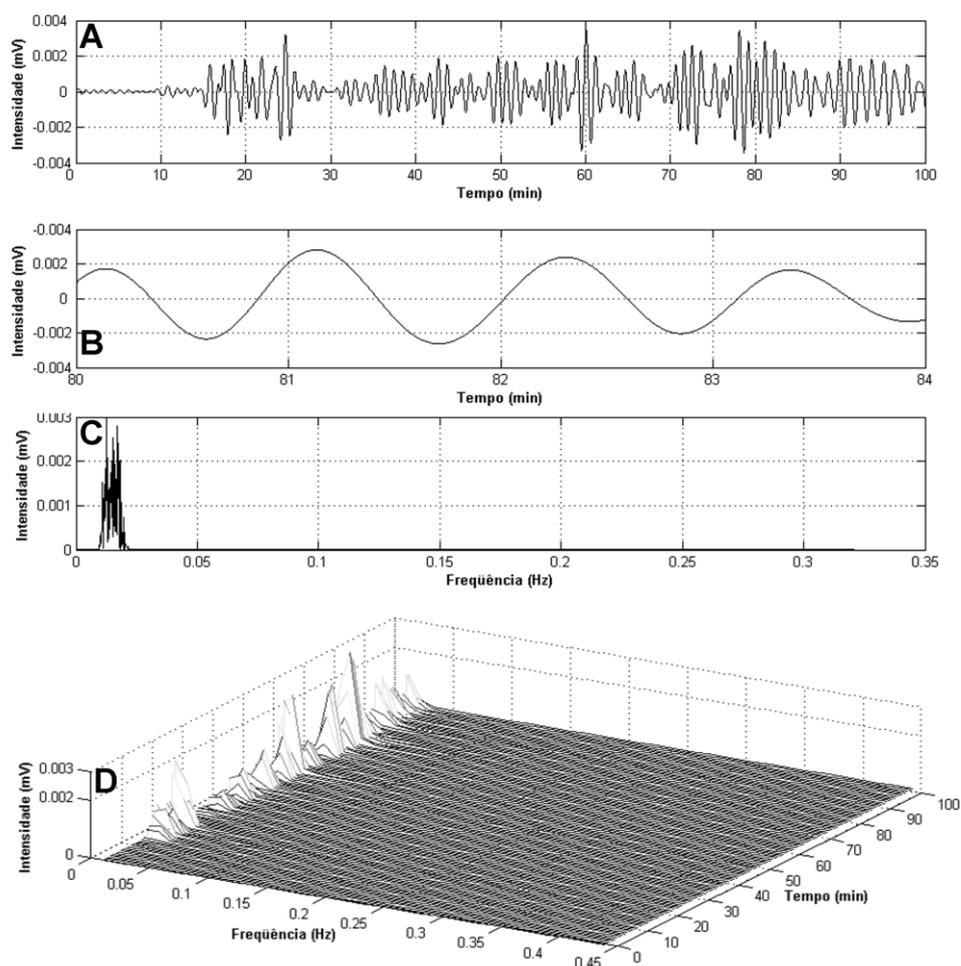


Figura 21: Atividade colônica de baixa frequência registrada. Em (A) observa-se o registro do sinal, sua ampliação (B) e sua intensidade espectral por meio de FFT (C). Em (D) observa-se a análise espectral dessa frequência no tempo.

Tabela 2: Baixas frequências contráteis registradas pela BAC e pelo EMG no cólon em experimentos empregando Prostigmina® e Buscopan®.

	BAC			EMG		
	Controle	Prostigmina®	Buscopan®	Controle	Prostigmina®	Buscopan®
Média Hz	0,021	0,016 *	0,022	0,023	0,018 **	0,020
cpm	1,26	0,96	1,32	1,38	1,08	1,20
SD Hz	0,002	0,003	0,009	0,002	0,002	0,009
cpm	0,12	0,18	0,54	0,12	0,12	0,54

* $p < 0,02$ entre controle e Prostigmina®

** $p < 0,03$ entre controle e Prostigmina®

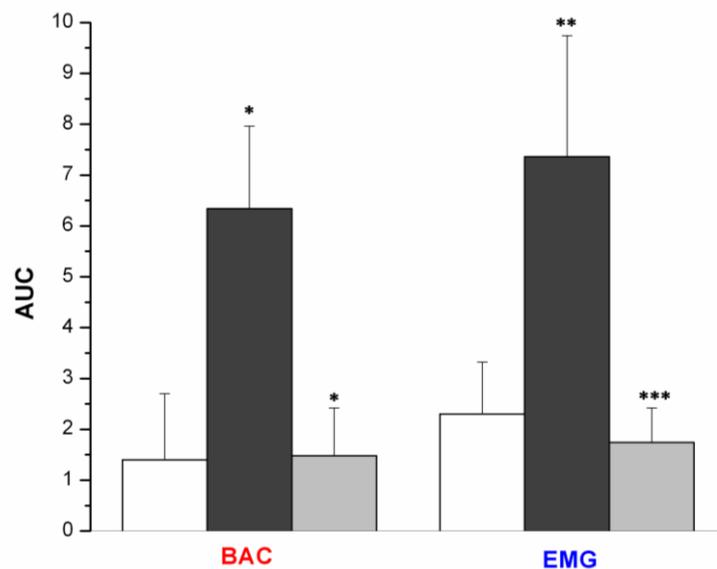


Figura 22: Efeitos da Prostigmina[®] e do Buscopan[®] na amplitude da atividade contrátil de baixa frequência nos períodos controle (□), Prostigmina[®] (■) e Buscopan[®] (■). Houve diferença significativa entre o período de controle e o de Prostigmina[®] e entre o de Prostigmina[®] e o de Buscopan[®] (* $p < 0,003$) para a BAC. Na EMG houve diferença significativa entre o período controle e o de Prostigmina[®] (** $p < 0,002$) e entre o período de Prostigmina[®] e o de Buscopan[®] (** $p < 0,004$). Os valores apresentados são as médias de resultados de 5 cães e as barras verticais indicam o DP.

Na Figura 22 nota-se que o aumento da atividade causado pela Prostigmina[®] e a redução da amplitude após o Buscopan[®] foi semelhante nos registros de BAC e de EMG. A Prostigmina[®] reduziu significativamente a atividade de baixa frequência em relação ao período controle, porém, após o Buscopan[®] houve uma tendência de volta aos valores do período controle (Tabela 3). A amplitude para baixa frequência apresentou o mesmo perfil da amplitude média (Figs. 22 e 20).

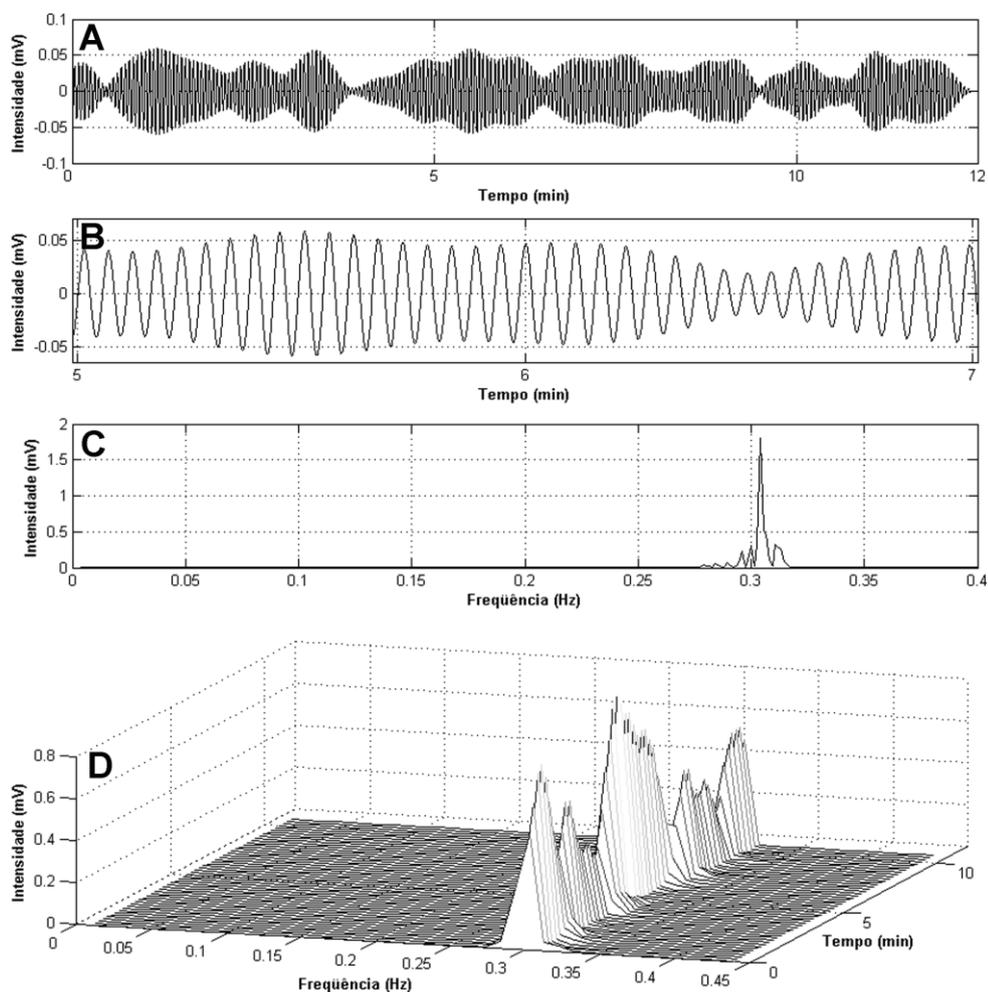


Figura 23: Atividade colônica de alta frequência registrada apenas pelo EMG. Em (A) observa-se o registro do sinal, uma ampliação (B) e sua intensidade espectral por meio de FFT (C). Em (D) observa-se a análise espectral e a constância dessa frequência no tempo.

Tabela 3: Atividade de alta frequência registrada pelo EMG no cólon em experimentos empregando Prostigmina[®] e Buscopan[®].

		EMG		
		Controle	Prostigmina[®]	Buscopan[®]
Média	Hz	0,28	0,25*	0,235 §†
	cpm	16,8	15,0	14,1
SD	Hz	0,019	0,024	0,02
	cpm	1,14	1,44	1,2

* $p < 0,04$ entre controle e prostigmina[®]

§ $p < 0,03$ entre prostigmina[®] e buscopan[®]

† $p < 0,02$ entre controle e buscopan[®]

Observou-se uma redução da alta frequência após a administração da Prostigmina[®] e uma queda ainda mais acentuada após o Buscopan[®]. As duas drogas também reduziram a amplitude nessa faixa de frequência (Fig. 24).

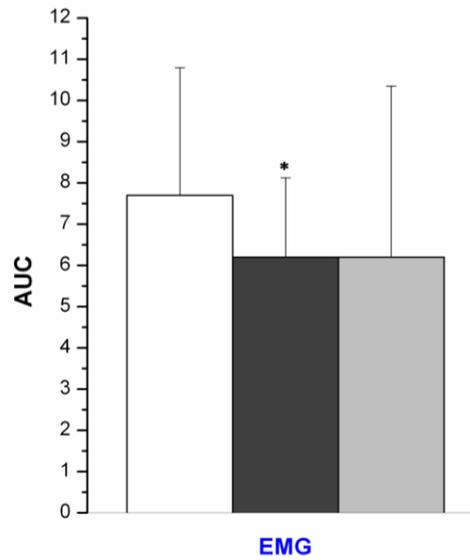


Figura 24: Efeitos da Prostigmina[®] e do Buscopan[®] na amplitude da atividade de alta frequência nos períodos controle (□), Prostigmina[®] (■) e Buscopan[®] (▒). (* $p < 0,18$). Os valores apresentados são as médias de resultados de 5 cães e as barras verticais indicam o DP.

A.2 – Efeitos da Prostigmina[®] e do Buscopan[®] sobre a motilidade gástrica

Além das frequências colônicas apontadas na tabela 1, todos os registros apresentaram a faixa de 0,06-0,1 Hz (4-6cpm) mais característica da atividade motora do estômago. Essas frequências, possivelmente, gástricas foram quantificadas em frequência (Tabela 4) e amplitude (Fig. 25).

Tabela 4: Frequências de contração, em faixa possivelmente gástrica, registradas pelo EGG e pela BAC em experimentos empregando Prostigmina[®] e Buscopan[®]

		EGG			BAC		
		Controle	Prostigmina [®]	Buscopan [®]	Controle	Prostigmina [®]	Buscopan [®]
Média	Hz	0,083	0,0695 *	0,073 ** †	0,083	0,067 ‡	0,072§
	cpm	5,0	4,2	4,4	5,0	4,0	4,3
SD	Hz	0,005	0,009	0,003	0,005	0,003	0,005
	cpm	0,3	0,5	0,2	0,3	0,2	0,4

* p<0,006 entre controle e prostigmina[®]

** p<0,02 entre prostigmina[®] e buscopan[®]

† p<0,02 entre controle e buscopan[®]

‡ p<0,04 entre controle e prostigmina[®]

§ p<0,04 entre prostigmina[®] e buscopan[®]

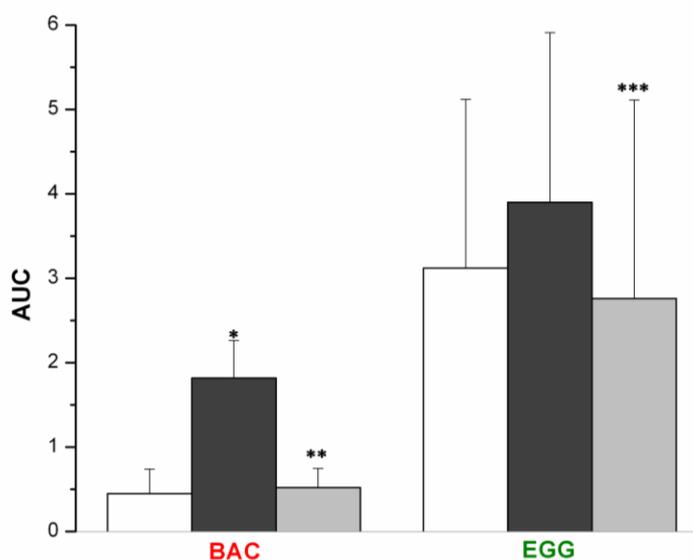


Figura 25: Efeitos da Prostigmina[®] e do Buscopan[®] na amplitude da atividade com frequência tipicamente gástrica nos períodos controle (□), Prostigmina[®] (■) e Buscopan[®] (■). Houve diferença significativa entre o período de controle e o de Prostigmina[®] (*p<0,009) e entre o de Prostigmina[®] e o de Buscopan[®] (**p<0,005) para a BAC. Valores médios com barra vertical indicando o DP. (**p<0,2)

A.3 – Correlação em frequência

Uma correlação em frequência entre a BAC e o EMG nos experimentos empregando Prostigmina[®] e Buscopan[®] foi efetuada para a baixa frequência colônica (Tabela 5). Observa-se que a Prostigmina[®] e Buscopan[®] aumentam ligeiramente a

correlação entre os métodos. A correlação para a faixa de alta frequência é zero, pois foi detectada apenas pela EMG.

Tabela 5: Correlação entre a EMG e BAC para baixa frequência contrátil em experimentos empregando Prostigmina[®] e Buscopan[®]

	Baixa Frequência		
	Controle	Prostigmina [®]	Buscopan [®]
Correlação (r)	0,821	0,840	0,984

B – Efeitos de diferentes doses de Eritromicina (EM) sobre a motilidade gastrointestinal de cães anestesiados.

B.1 – Ação da Eritromicina sobre o cólon

A Figura 26 ilustra os efeitos de três diferentes doses de eritromicina sobre os registros elétricos e mecânicos da motilidade colônica de um mesmo animal. Nos traçados fica nítida a relação dose-resposta, ou seja, quanto maior a dose da droga, maior o efeito eletromecânico que a mesma exerce. A dose de 0,4 mg/Kg provocou aumento da atividade, que aumentou progressivamente com as doses de 2,0 mg/Kg e 10,0 mg/Kg, a qual provocou respostas mais rápidas e intensas registrada pelas duas técnicas.

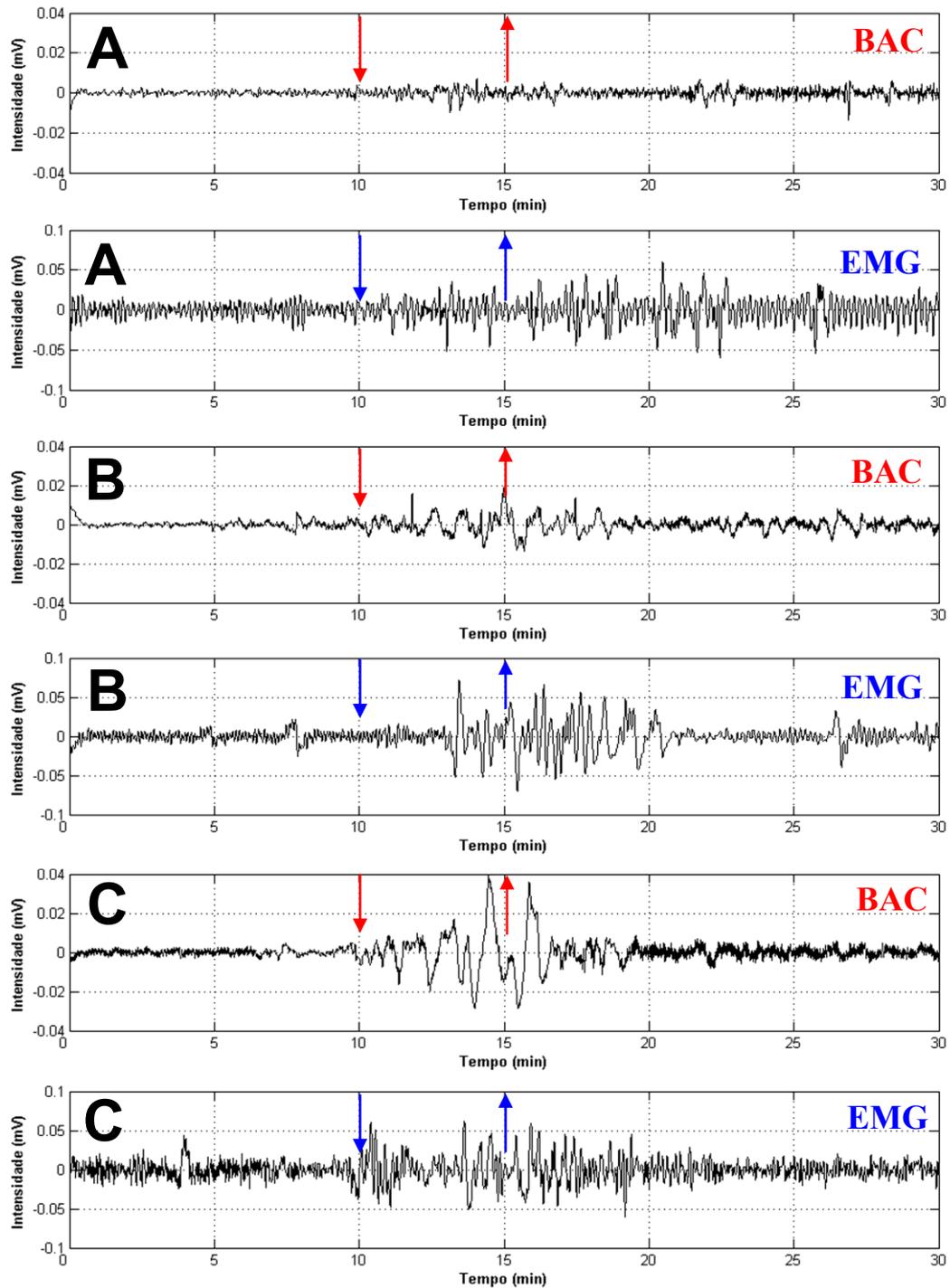


Figura 26: Registros colônicos elétricos (EMG) e mecânicos (BAC) obtidos em um mesmo animal mediante a administração das doses de 0,4 (A), 2,0 (B) e 10,0 mg/Kg (C) de EM. As setas indicam o início e o término da infusão de EM.

A relação entre a dose de eritromicina administrada e seu efeito sobre a motilidade do cólon, medida pela BAC e pela EMG ao longo dos 45 minutos após a administração, encontra-se na Figura 27.

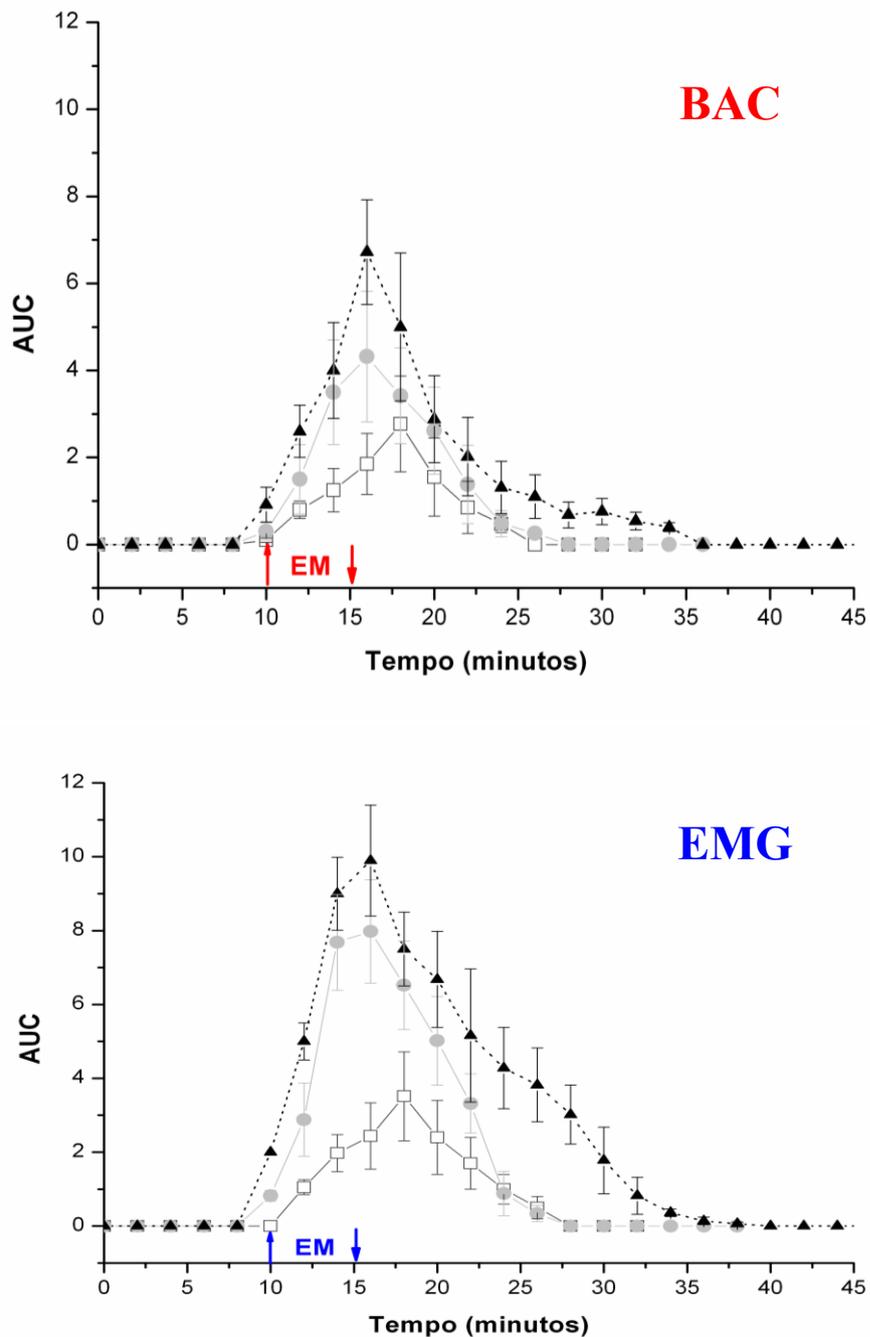


Figura 27: Perfis temporais das respostas da contratilidade colônica às diferentes doses de eritromicina para a BAC e a EMG. As curvas representam a dose de 0,4 mg/Kg (\square), dose de 2,0 mg/Kg (\bullet) e dose de 10 mg/Kg (\blacktriangle) de eritromicina. As setas indicam o início e o término da administração da EM. Valores médios com barra vertical de DP.

O intervalo de tempo entre a administração da eritromicina e o seu efeito máximo e a duração do efeito da droga sobre a contratilidade encontra-se na Figura 28.

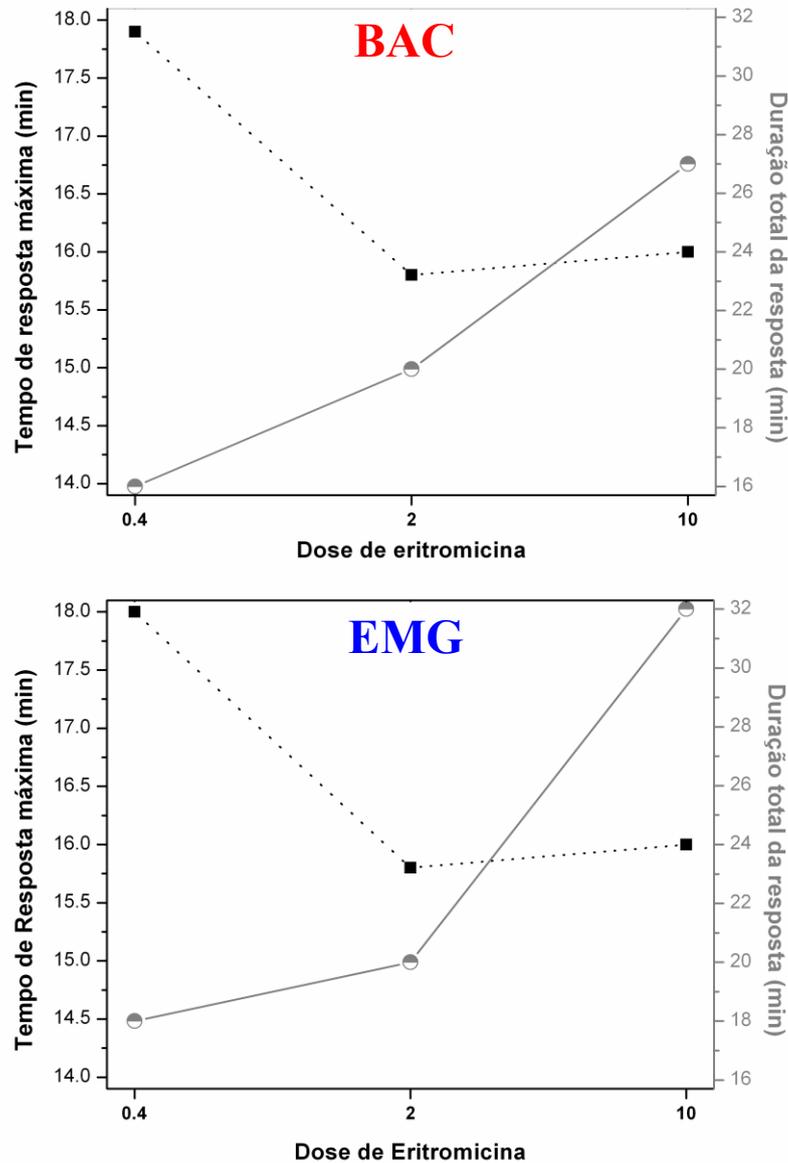


Figura 28: Intervalo entre o início da administração e o máximo da resposta contrátil (■) e duração da resposta contrátil (○) para cada dose de EM conforme os resultados de EMG e BAC.

O tempo necessário para que haja uma resposta máxima para cada dose (Figs. 27 e 28) demonstra que cólon responde com velocidades diferentes às três doses de EM. Este tempo de resposta máxima foi praticamente idêntico para a BAC e para o

EMG, mas variou consideravelmente entre a menor dose e as outras duas. Entre as doses de 2,0 e de 10,0 mg/kg praticamente não houve diferença no tempo necessário para apresentarem o máximo efeito (Fig. 28). A variação da amplitude em resposta à EM foi estabelecida para as três doses com exclusão (Fig. 29) e inclusão das frequências gástricas na análise (Fig. 30).

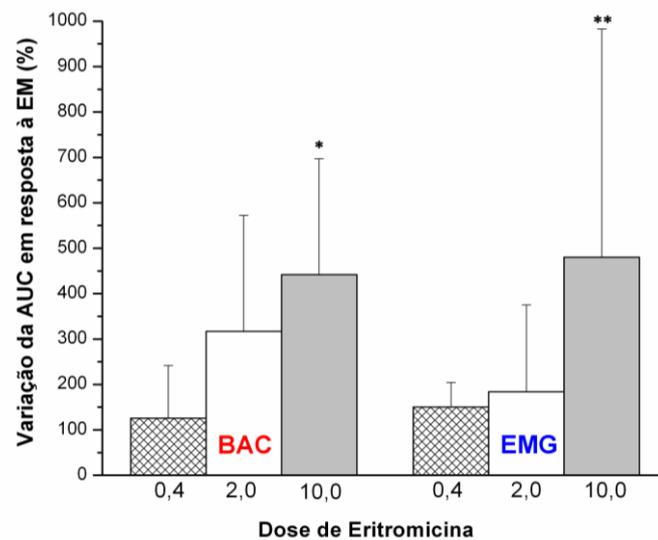


Figura 29: Resposta mecânica (BAC) e elétrica (EMG) às doses de 0,4, 2,0 e 10,0 mg/Kg de EM. Houve diferença significativa entre a dose de 0,4 e a de 10,0 mg/Kg $*p<0,05$ para a BAC. Essa análise de amplitude excluiu as frequências gástricas. $**p<0,2$

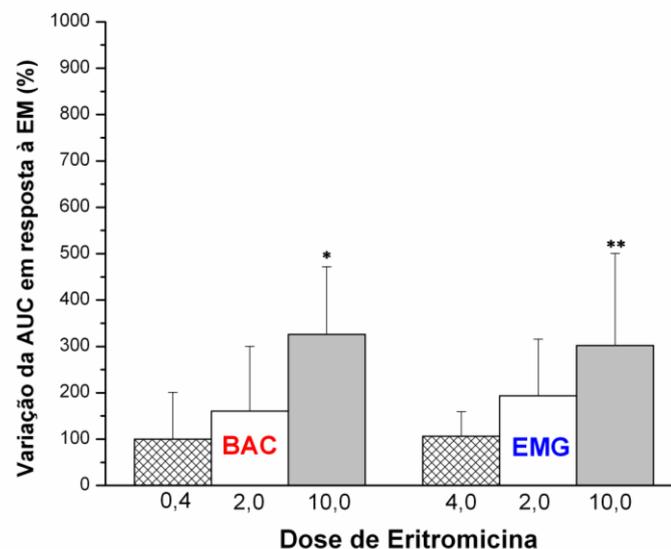


Figura 30: Resposta mecânica (BAC) e elétrica (EMG) às doses de 0,4, 2,0 e 10,0 mg/Kg EM. Houve diferença significativa entre a dose de 0,4 e a de 10,0 mg/Kg $**p<0,05$ para a EMG. Essa análise de amplitude não excluiu as frequências gástricas. $*p<0,08$

A partir da variação da amplitude no cólon foram construídas curvas dose-resposta para as três doses de eritromicina incluindo-se ou não as frequências gástricas da análise (Fig. 31 e 32).

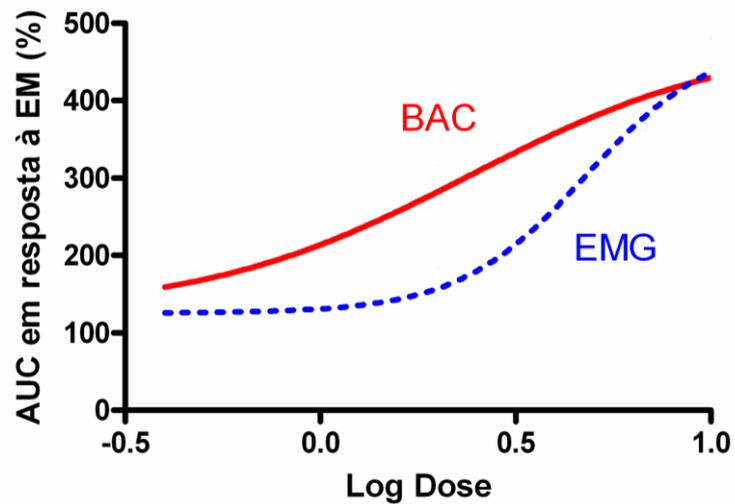


Figura 31: Curvas dose-resposta colônica, a partir da variação de amplitude, com exclusão da frequência gástrica.

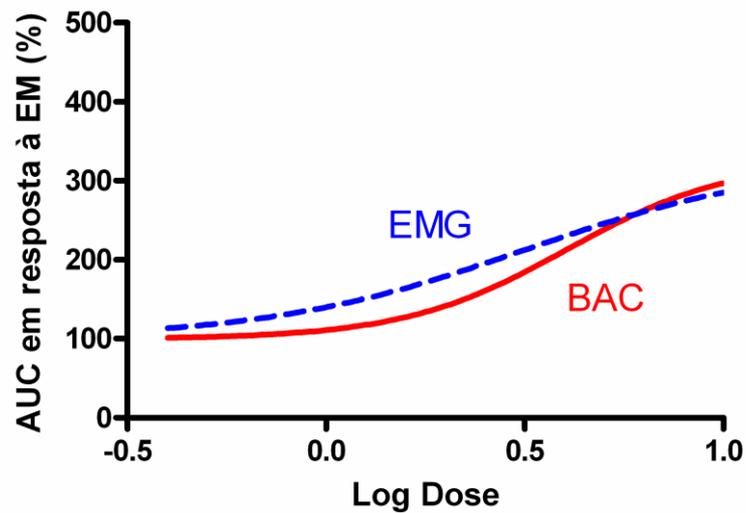


Figura 32: Curvas dose-resposta colônica, a partir da variação de amplitude, sem exclusão da frequência gástrica.

Observa-se que a faixa de baixa frequência contrátil entre 0,02-0,04 Hz (1,2-2,4 cpm) esteve presente em 14 experimentos para a BAC e em 9 para o EMG (Fig. 33). Essa faixa de baixa frequência foi quantificada no período Controle, Eritromicina e Pós-droga (Tabela 7) e a amplitude determinada apenas para essa faixa (Fig. 34).

Nesses experimentos também foi expressiva a presença de uma faixa de frequência contrátil entre 0,04-0,05 Hz (2,4-3 cpm) (Fig. 35). Essa faixa de frequência foi quantificada em frequência (Tabela 8) e amplitude (Fig. 36).

Tabela 7: Atividade colônica de baixa frequência registrada pela BAC e pelo EMG nos experimentos empregando Eritromicina.

Dose			Controle		EM		Pós-droga	
			BAC	EMG	BAC	EMG	BAC	EMG
0,4	Média	Hz	0,019	0,019	0,022	0,024	0,023	0,021
		cpm	1,14	1,14	1,32	1,44	1,38	1,26
	SD	Hz	0,006	0,007	0,006	0,004	0,005	0,002
		cpm	0,36	0,42	0,36	0,24	0,30	0,12
2,0	Média	Hz	0,020	0,021	0,020	0,021	0,022	0,022
		cpm	1,20	1,26	1,20	1,26	1,32	1,32
	SD	Hz	0,004	0,003	0,003	0,001	0,003	0,005
		cpm	0,24	0,18	0,18	0,06	0,18	0,30
10,0	Média	Hz	0,020	0,026	0,023	0,024	0,020 *	0,023
		cpm	1,20	1,56	1,38	1,44	1,20	1,38
	SD	Hz	0,003	0,004	0,004	0,005	0,006	0,004
		cpm	0,18	0,24	0,24	0,30	0,36	0,24

* $p < 0,08$ entre o período de EM e o pós-droga

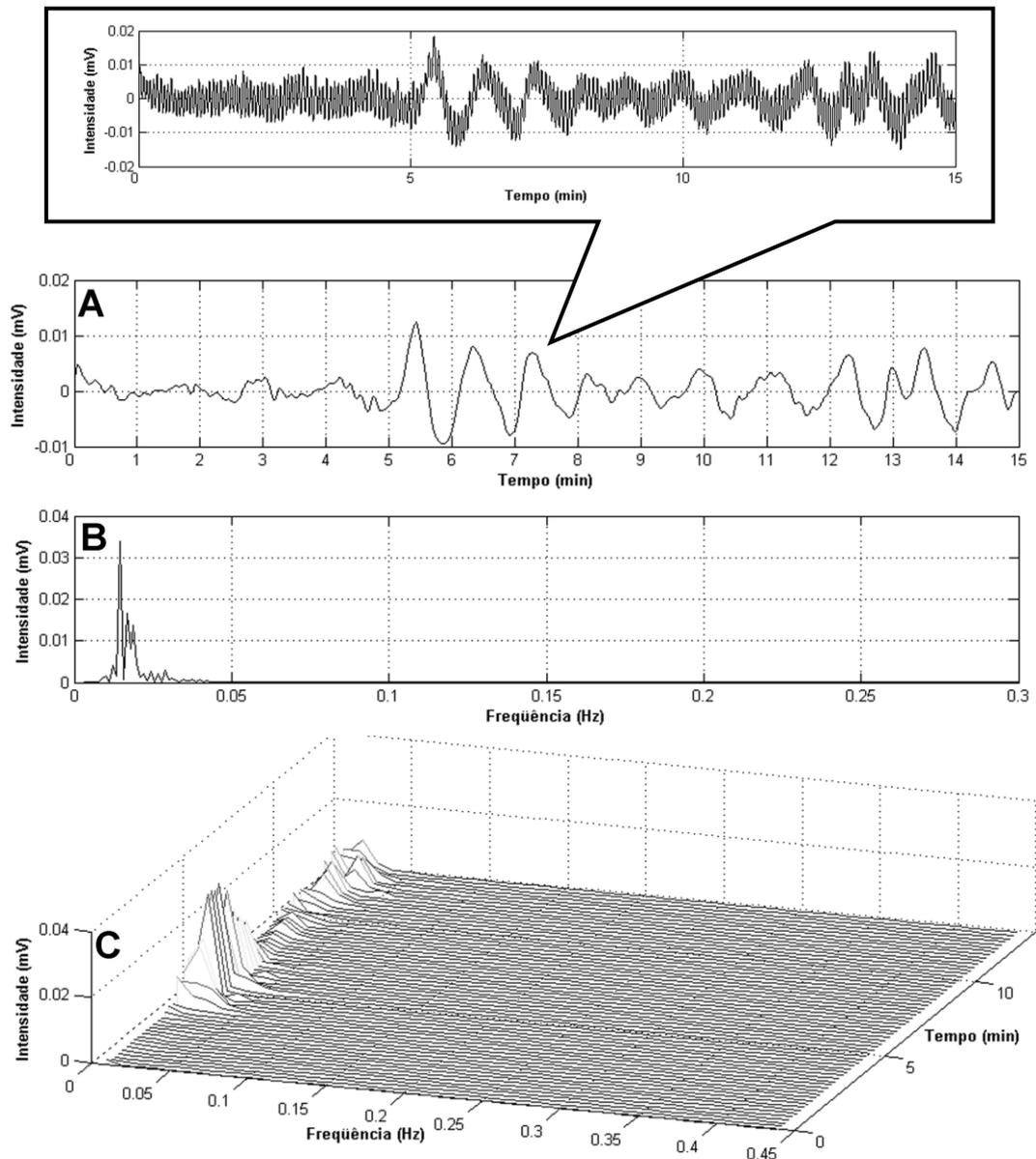


Figura 33: Atividade de baixa frequência registrada no cólon. Observa-se em (A) o registro do sinal, sua intensidade espectral por meio de FFT (B) e a análise espectral dessa frequência no tempo (C). O *inset* superior apresenta um trecho do registro original sem filtragem.

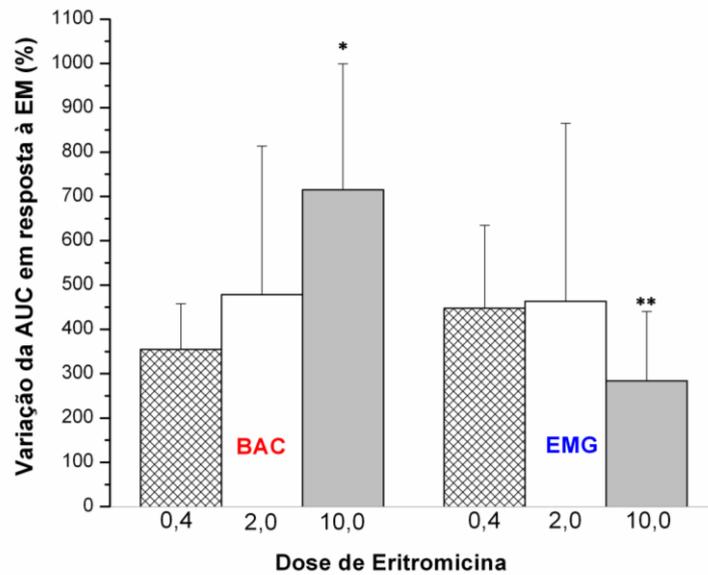


Figura 34: Efeitos das três doses de Eritromicina sobre a amplitude da atividade de baixa frequência. Os valores representam a variação média obtida através da análise de 5 cães e as barras verticais indicam o DP. * $p < 0,06$; ** $p < 0,2$

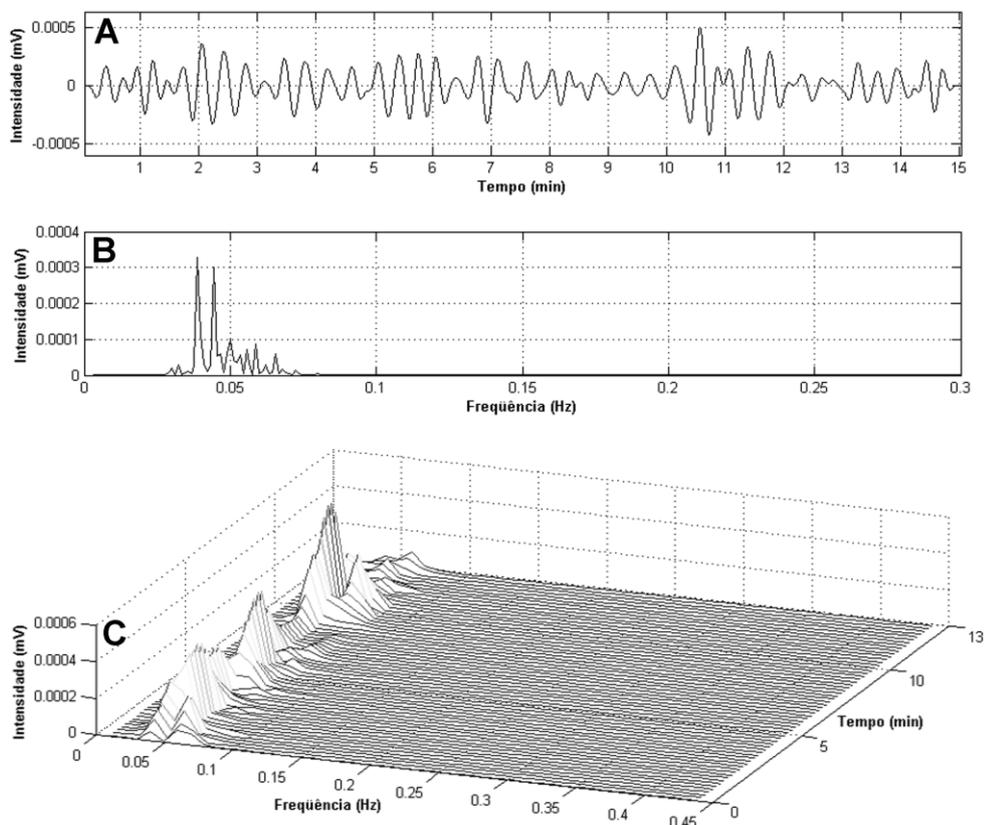


Figura 35: Atividade contrátil com frequência de 0,04-0,05 Hz (2,4-3 cpm) registrada no cólon. Observa-se em (A) o registro do sinal, sua intensidade espectral por meio de FFT (B) e a análise espectral (C) onde nota-se a variabilidade da intensidade dessa faixa de frequência.

Tabela 8: Atividade contrátil do cólon na faixa de 0,04-0,05 Hz (2,4-3 cpm) registrada pela BAC e pelo EMG antes, durante e após a administração da Eritromicina.

Dose		Controle		EM		Pós-droga		
		BAC	EMG	BAC	EMG	BAC	EMG	
0,4	Média	Hz	0,040	0,047	0,055	0,040	0,047	0,040
		cpm	2,40	2,80	3,30	2,40	2,82	2,40
	SD	Hz	0,004	0,006	0,001	0,009	0,005	0,010
		cpm	0,24	0,36	0,06	0,54	0,30	0,60
2,0	Média	Hz	0,045	0,050	0,046	0,047	0,049	0,048
		cpm	2,70	3,00	2,80	2,82	2,95	2,90
	SD	Hz	0,005	0,008	0,008	0,007	0,007	0,005
		cpm	0,30	0,48	0,48	0,42	0,42	0,30
10,0	Média	Hz	0,048	0,050	0,040 *	0,051	0,046	0,048
		cpm	2,90	3,00	2,40	3,10	2,80	2,90
	SD	Hz	0,007	0,008	0,006	0,006	0,008	0,009
		cpm	0,42	0,48	0,36	0,36	0,48	0,54

* $p < 0,03$ entre controle e EM

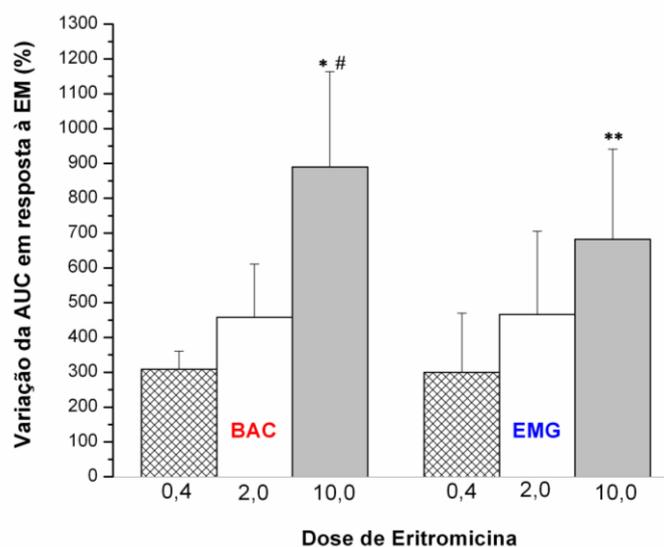


Figura 36: Efeitos das três doses de Eritromicina sobre a atividade contrátil da frequência de 0,04-0,05 Hz (2,4-3 cpm). Houve diferença significativa entre as doses de 0,4 e 10,0 mg/Kg ($*p < 0,005$) e entre as doses de 2,0 e 10,0 mg/kg ($\# p < 0,02$) para a BAC. Houve diferença significativa entre a dose de 0,4 e 10,0 mg/Kg para o EMG ($**p < 0,03$). Os valores representam a variação média obtida através da análise de 5 cães e as barras verticais indicam o DP.

Já a faixa de alta frequência entre 0,25-0,32 Hz (15-19,2 cpm) foi registrada em 14 experimentos, embora apenas pelo EMG (Fig. 37). Essa faixa foi igualmente quantificada em frequência (Tabela 9) e amplitude (Fig. 38).

Tabela 9: Atividade de alta frequência colônica registrada pelo EMG nos experimentos empregando Eritromicina.

Dose			Controle	EM	Pós-droga
0,4	Média	Hz	0,276	0,263 *	0,276
		cpm	16,56	15,78	16,56
	SD	Hz	0,024	0,024	0,027
		cpm	1,44	1,44	1,62
2,0	Média	Hz	0,288	0,281	0,290
		cpm	17,28	16,86	17,40
	SD	Hz	0,020	0,035	0,022
		cpm	1,20	2,10	1,32
10,0	Média	Hz	0,272	0,232	0,235
		cpm	16,32	13,92	14,10
	SD	Hz	0,020	0,030	0,028
		cpm	1,20	1,80	1,68

* $p < 0,04$ entre período controle e EM

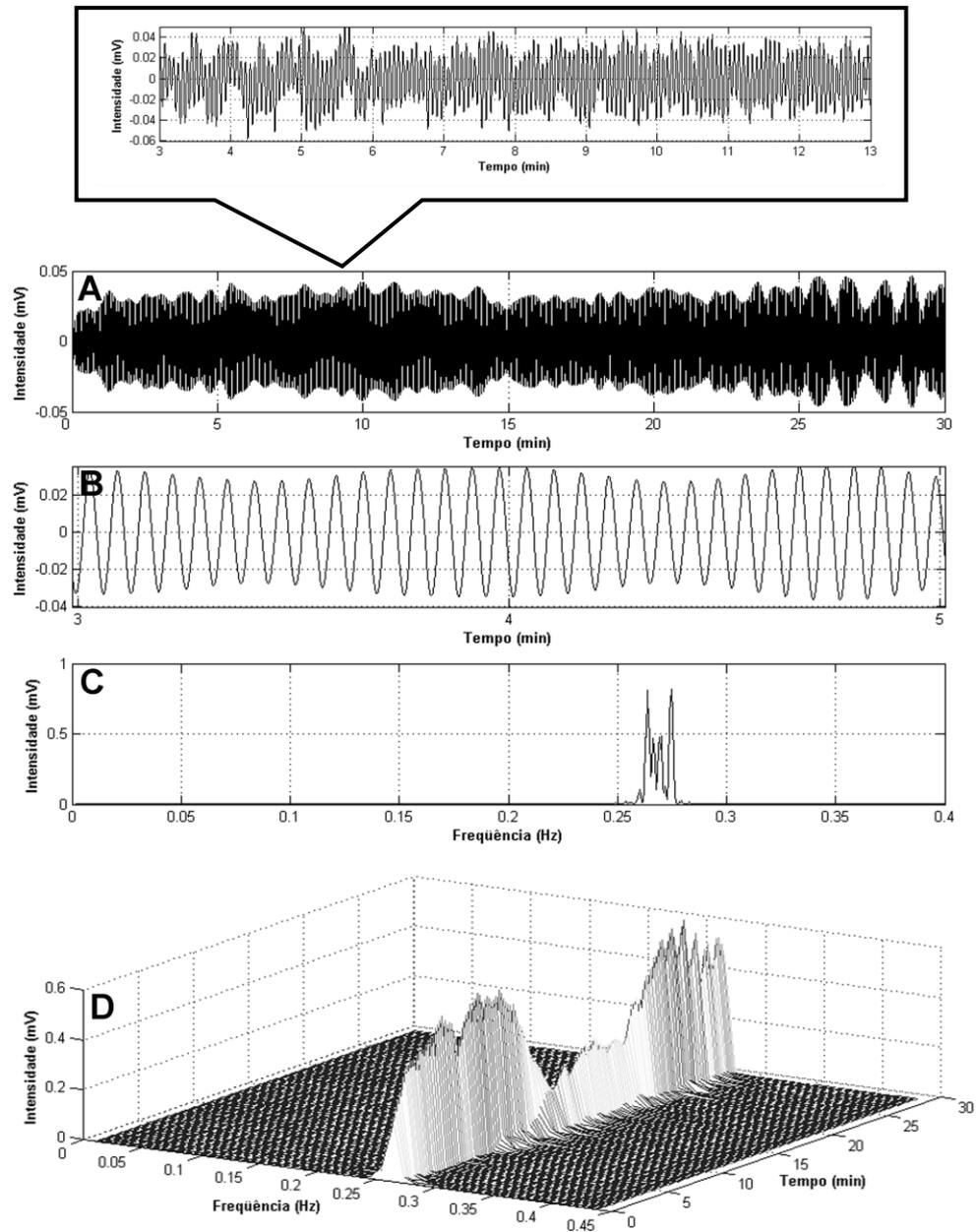


Figura 37: Atividade de alta frequência registrada pelo EMG no cólon. Em (A) observa-se o registro do sinal de alta frequência colônica, sua ampliação (B) e sua intensidade espectral por meio da FFT (C). Em (D) observa-se a análise espectral e a constância dessa frequência. O *inset* superior apresenta um trecho do registro original sem filtragem.

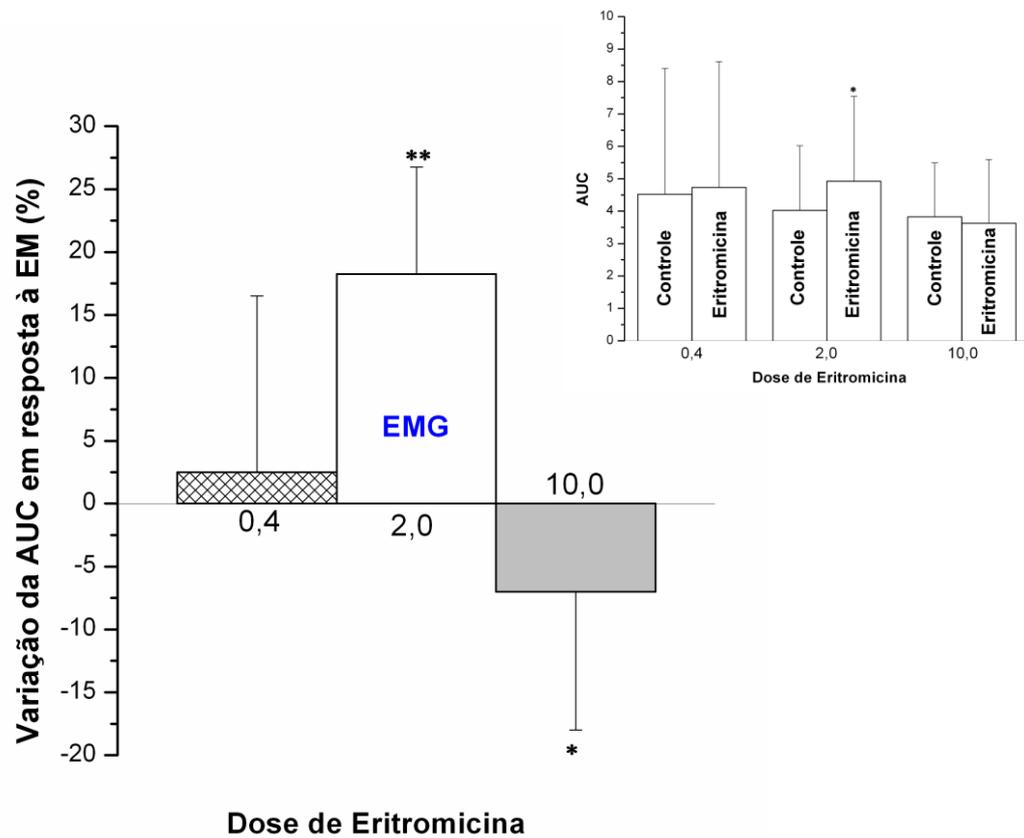


Figura 38: Efeitos das três doses de Eritromicina sobre a AUC da atividade de alta frequência. O *inset* mostra os valores absolutos da AUC para os períodos controle e EM registrados para as três doses. Os valores representam a variação média obtida através da análise de 5 cães e as barras verticais indicam o DP.

* $p < 0,2$; ** $p < 0,2$.

B.2 – Ação da Eritromicina sobre a contratilidade do estômago

A Figura 39 ilustra o efeito das três diferentes doses de eritromicina sobre o registro elétrico e mecânico do estômago de um mesmo animal.

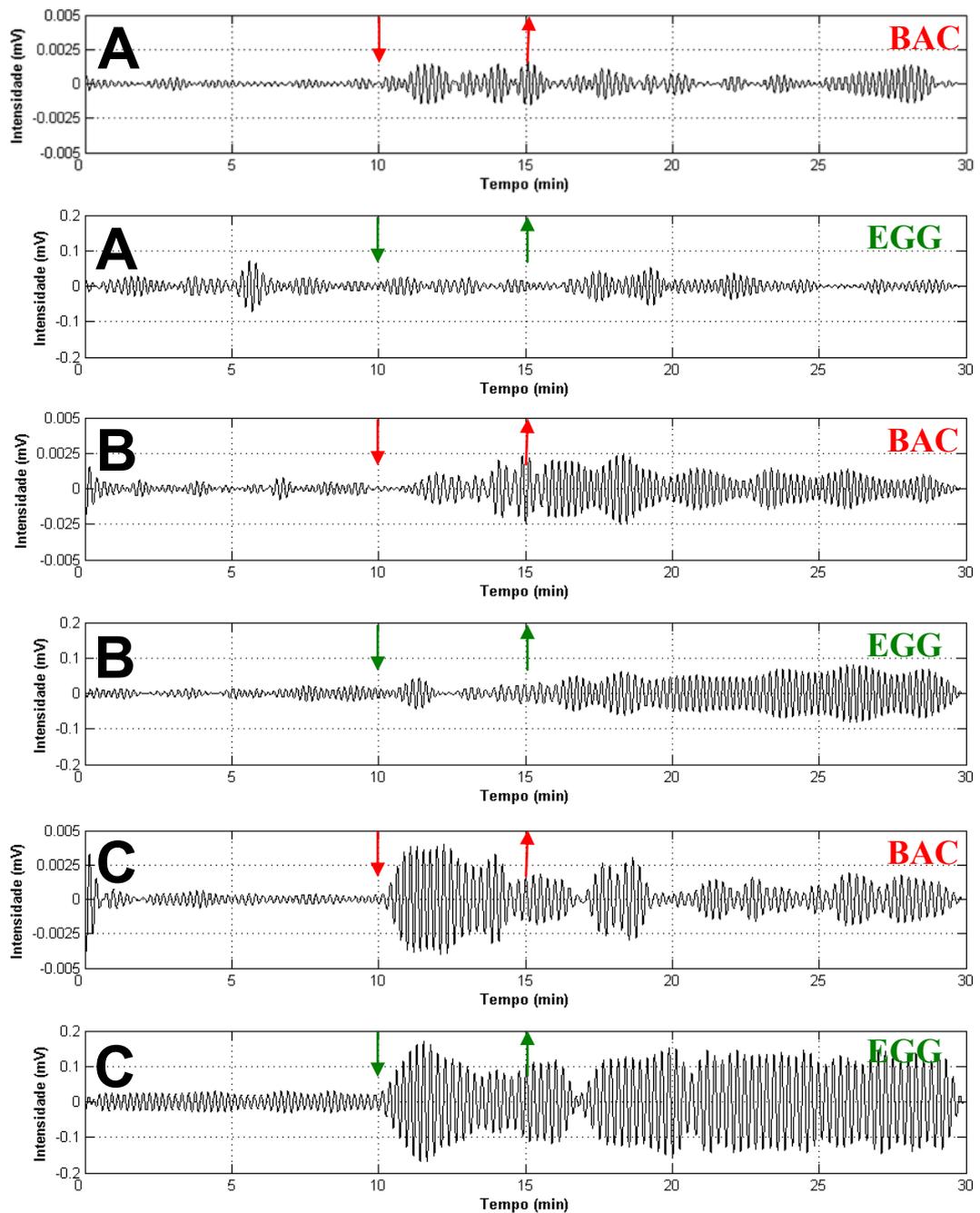


Figura 39: Registros elétrico (EGG) e mecânico (BAC) da contratilidade gástrica obtidos em um mesmo animal antes, durante e depois da administração das doses de 0,4 (A), 2,0 (B) e 10,0 mg/Kg (C) de EM. As setas indicam o início e o término da infusão de EM.

A relação entre a dose de eritromicina administrada e seu efeito sobre a contratilidade gástrica medida pela BAC e pela EMG ao longo dos 45 minutos após a

administração encontra-se na Figura 40. O intervalo de tempo entre a administração da eritromicina e o seu efeito máximo e a duração do efeito da droga sobre a contratilidade encontra-se na Figura 41.

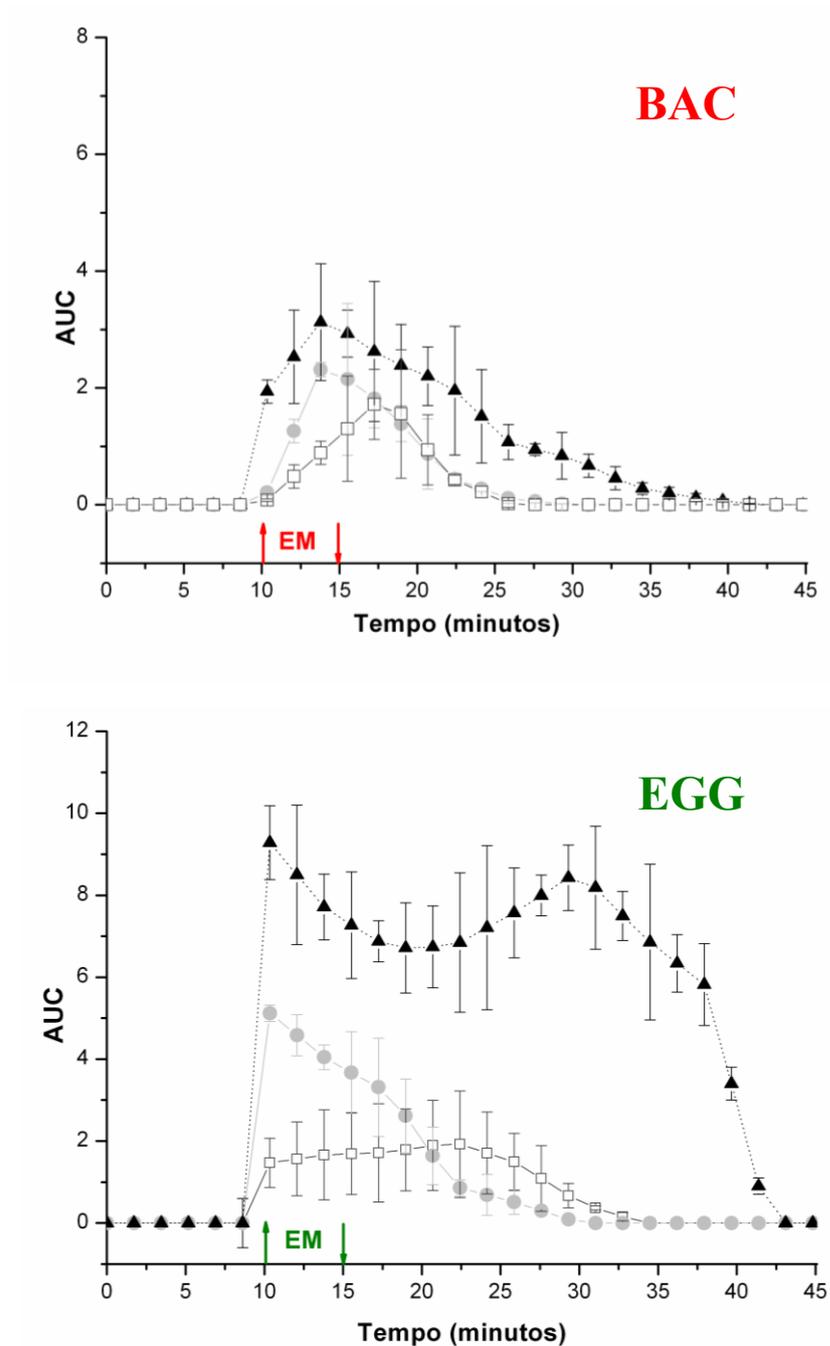


Figura 40: Perfis temporais das respostas da contratilidade gástrica às diferentes doses de eritromicina para a BAC e a EGG. As curvas representam a dose de 0,4 mg/Kg (\square), dose de 2,0 mg/Kg (\bullet) e dose de 10 mg/Kg (\blacktriangle) de eritromicina. As setas indicam início e o término de administração da EM. Valores médios com barra vertical de DP.

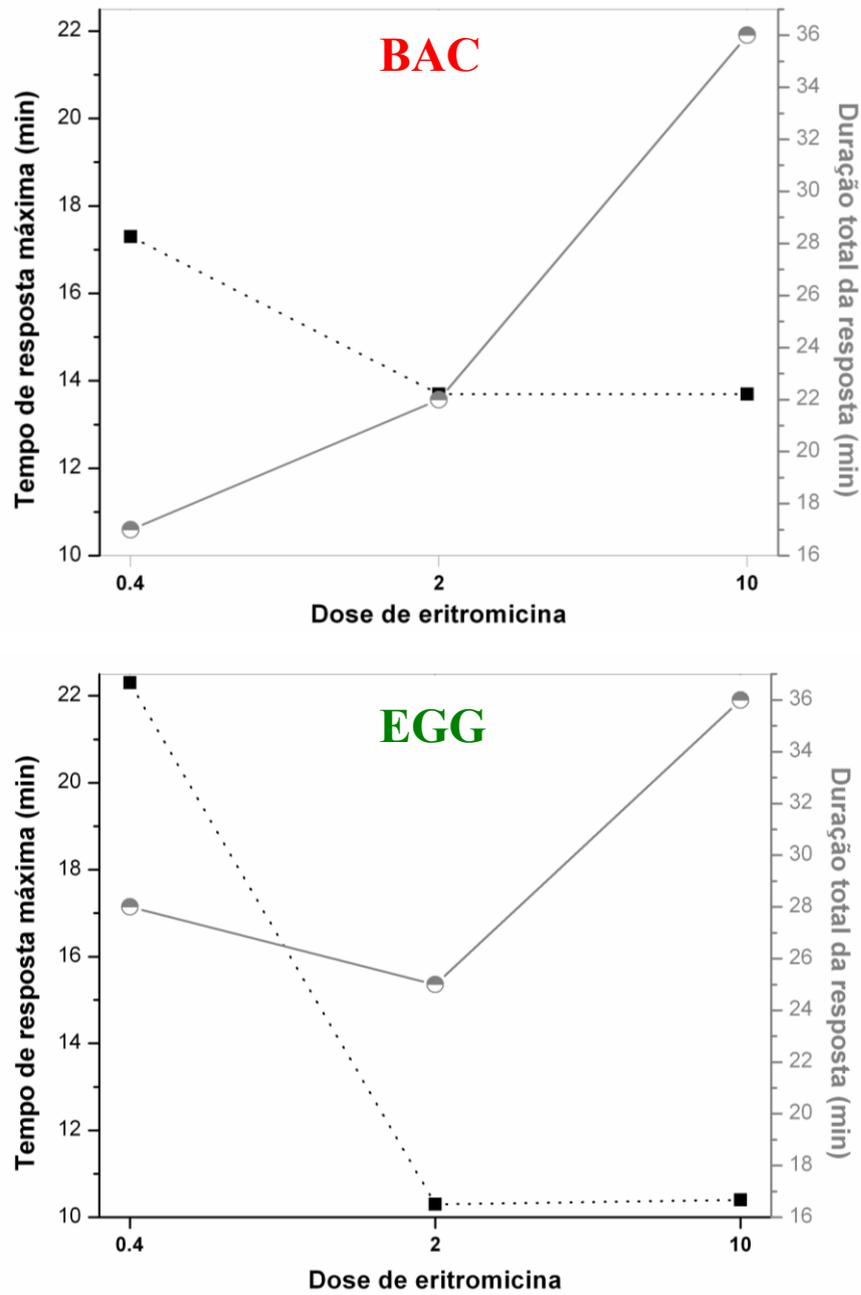


Figura 41: Intervalo entre o início da administração e o máximo da resposta contrátil (■) e duração da resposta contrátil (○) para cada dose de EM conforme os resultados de EGG e BAC.

A atividade contrátil entre 0,06-0,1 Hz (3,6-6cpm), encontrada em todos os registros e característica do estômago, foi quantificada (Tabela 10) e a AMPLITUDE calculada nos períodos de controle, aplicação da eritromicina e pós-droga (Fig. 42).

Tabela 10: Frequência de contração gástrica registradas para cada dose de EM

Dose		Controle		EM		Pós-droga		
			BAC	EGG	BAC	EGG	BAC	EGG
0,4	Média	Hz	0,089	0,087	0,067 *	0,065**	0,088	0,080 ‡
		cpm	5,34	5,22	4,02	3,90	5,28	4,80
	SD	Hz	0,009	0,006	0,012	0,005	0,010	0,005
		cpm	0,54	0,36	0,72	0,30	0,60	0,30
2,0	Média	Hz	0,080	0,085	0,074 §	0,080§	0,081	0,081
		cpm	4,80	5,10	4,44	4,80	4,86	4,86
	SD	Hz	0,010	0,011	0,010	0,007	0,081	0,010
		cpm	0,60	0,66	0,60	0,42	4,86	0,60
10,0	Média	Hz	0,083	0,082	0,074 †	0,075††	0,072	0,074
		cpm	4,98	4,92	4,44	4,50	4,32	4,44
	SD	Hz	0,007	0,007	0,008	0,008	0,010	0,011
		cpm	0,42	0,42	0,48	0,48	0,60	0,66

* $p < 0,004$ entre controle e EM

** $p < 0,0008$ entre controle e EM

‡ $p < 0,001$ entre EM e pós-droga

§ $p < 0,06$ entre controle e EM

† $p < 0,001$ entre controle e EM

†† $p < 0,02$ entre controle e EM

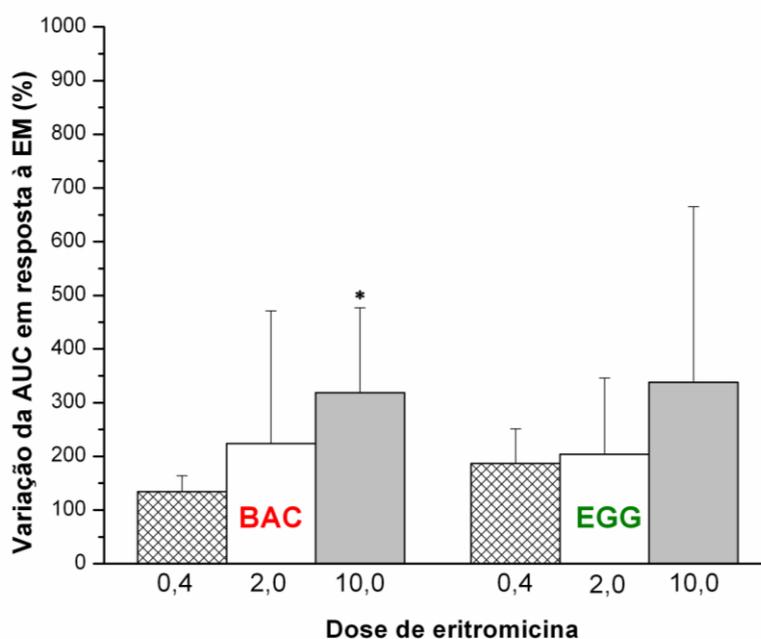


Figura 42: Efeitos das três doses de Eritromicina sobre a amplitude de contração gástrica. Os valores representam a variação média obtida através da análise de 5 cães e as barras verticais indicam o DP. * $p < 0,06$.

A partir da variação da amplitude, obtiveram-se as curvas dose-resposta do estômago para as três doses de eritromicina para o EGG e a BAC (Fig. 43). Nas curvas gástricas a metade do efeito máximo foi 0,48 com inclinação da curva de 1,3 para a BAC e 0,49 para o EMG com inclinação de 1,5.

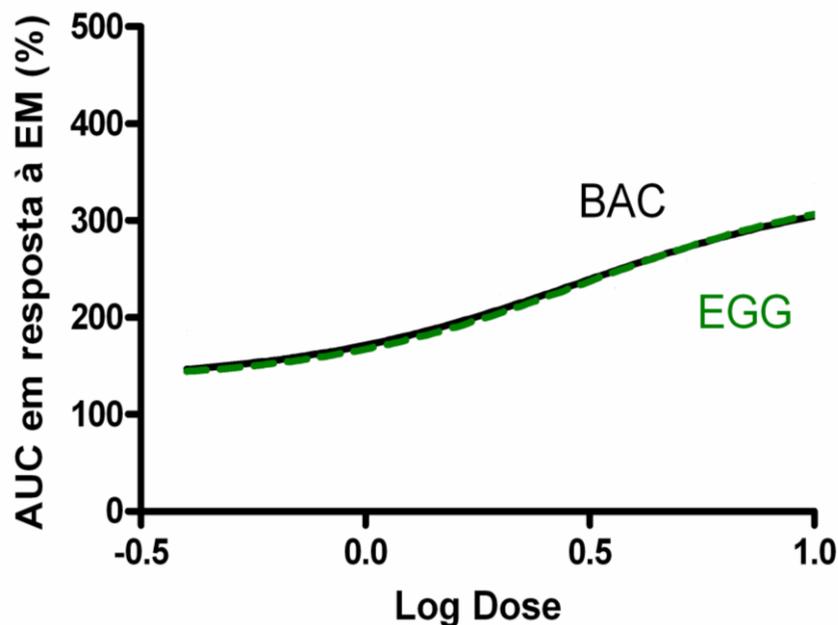


Figura 43: Curvas dose-resposta a partir da variação de amplitude das contrações gástrica obtidas para as duas técnicas.

B.3 – Correlação em frequência

Já a correlação entre a BAC e o EMG para experimentos empregando eritromicina foi realizada para a baixa frequência (Tabela 11), frequência de 0,04-0,05 Hz (2,4-3 cpm) (Tabela 12) e alta frequência para as três doses. Para a baixa frequência houve uma alta correlação no período de controle, que diminuiu durante o período EM conforme a dose de eritromicina foi aumentada. No período pós-droga houve uma relação inversa entre correlação e dose de eritromicina administrada, ou seja, o aumento da dose de EM diminuiu a correlação entre os métodos.

Tabela 11: Correlação entre a EMG e BAC, para baixa atividade colônica, para as três doses de eritromicina

	Baixa frequência						
	Controle		EM			Pós-droga	
	Média	Dose 0,4	Dose 2,0	Dose de 10,0	Dose 0,4	Dose 2,0	Dose 10,0
Correlação (r)	0,950	0,661	0,560	0,470	0,926	0,689	0,387

Para a frequência de 0,4-0,5 Hz houve uma correlação razoável no período de controle, que diminuiu para a dose de 0,4 mg/Kg, e aumentou para as outras duas doses durante o período EM. No período Pós-droga houve uma relação direta entre correlação e dose de eritromicina administrada, isto é, conforme aumentou a dose, aumentou a correlação. Nesses experimentos a correlação para a alta frequência foi nula.

Tabela 12: Correlação entre a EMG e BAC, para atividade colônica entre 0,04-0,05 Hz (2,4-3 cpm), para as três doses de eritromicina

	Frequência entre 0,04-0,05 Hz						
	Controle		EM			Pós-droga	
	Média	Dose 0,4	Dose 2,0	Dose de 10,0	Dose 0,4	Dose 2,0	Dose 10,0
Correlação (r)	0,717	0,440	0,875	0,906	0,397	0,795	0,908

A eritromicina, praticamente, não interferiu com a correlação entre o EGG e a BAC para as frequências gástricas (Tabela 13).

Tabela 13: Correlação entre EGG e BAC, na faixa de frequência gástrica, para as três doses de eritromicina

	Frequência gástrica						
	Controle		EM			Pós-droga	
	Média	Dose 0,4	Dose 2,0	Dose de 10,0	Dose 0,4	Dose 2,0	Dose 10,0
Correlação (r)	0,985	0,91	0,93	0,91	0,99	0,97	0,9

C – Efeitos de uma refeição padronizada sobre a motilidade gastrointestinal de cães não anestesiados.

C.1 – Atividade motora gástrica após uma refeição padronizada

A Tabela 14 apresenta as frequências de contração características do estômago durante o jejum e 25 minutos depois de uma refeição padronizada. Fica evidente o aumento de frequência registrado para ambas as técnicas. Para essa faixa de frequência gástrica também foi calculada a amplitude (Fig. 44) do período jejum e do período alimentado.

Tabela 14: Frequências de contração gástricas registradas pela BAC e EGG simultaneamente durante o jejum e após a alimentação.

		BAC		EGG	
		Jejum	Alimentado	Jejum	Alimentado
Média	Hz	0,082	0,087	0,072	0,085
	cpm	4,92	5,22	4,32	5,10
SD	Hz	0,011	0,008	0,009	0,014
	cpm	0,66	0,48	0,54	0,84

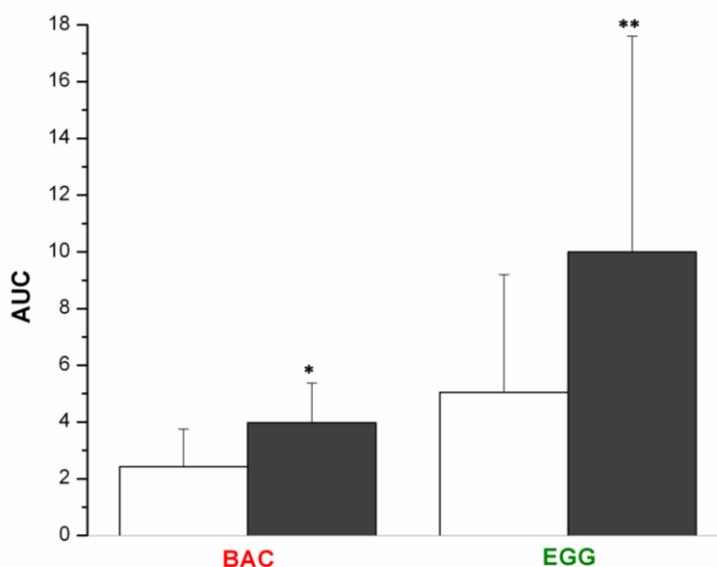


Figure 44: Efeito de uma refeição padronizada sobre a amplitude da atividade gástrica. * $p < 0,1$ e ** $p < 0,18$ entre período de jejum (□) e alimentado (■). Os valores representam a média dos resultados de 5 cães e as barras verticais indicam o DP.

C.2 – Resposta colônica imediata a uma refeição

A Figura 45 mostra o efeito, em um mesmo cão, de uma refeição padronizada sobre as atividades elétrica e mecânica do cólon. A amplitude média após refeição, excluindo-se as frequências gástricas, foi maior para a BAC do que para o EMG, comparada ao jejum (Fig. 46).

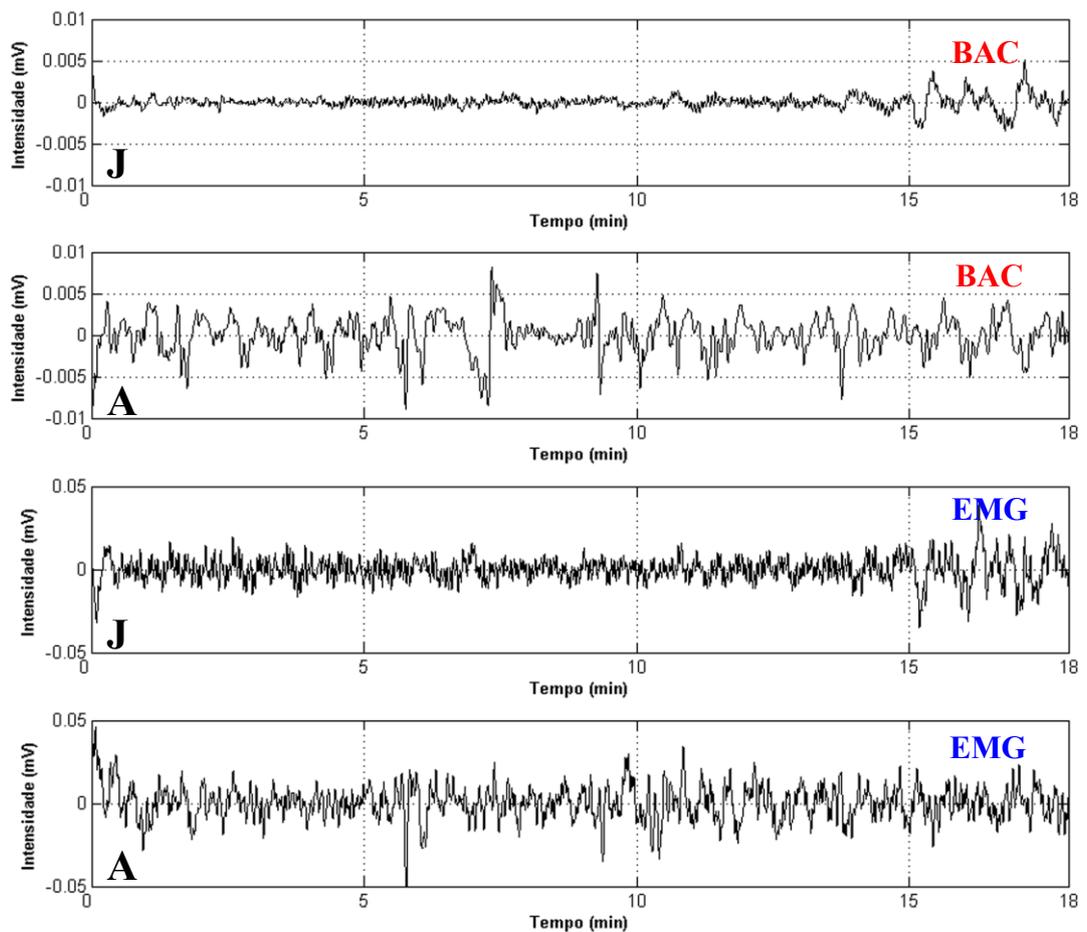


Figura 45: Registro da atividade elétrica (EMG) e mecânica (BAC), em um mesmo cão, durante período de jejum (J) e alimentado (A).

Observa-se que a faixa de baixa frequência contrátil entre 0,02-0,035 Hz (1,2-2,1 cpm) esteve presente em todos animais e em ambas as técnicas. A faixa de baixa frequência foi quantificada em frequência (Tabela 16) e amplitude (Fig. 47) para os períodos de jejum e alimentado. Já a faixa de alta frequência entre 0,27-0,35 Hz (16,2-21 cpm) foi registrada em todos os experimentos, embora apenas pelo EMG. Essa faixa foi igualmente quantificada (Tabela 17 e Fig. 48).

Tabela 16: Atividade de baixa frequência contrátil registrada pela BAC e pelo EMG no cólon antes e após a refeição

		BAC		EMG	
		Jejum	Alimentado	Jejum	Alimentado
Média	Hz	0,018	0,020 *	0,017	0,021 **
	cpm	1,08	1,20	1,02	1,26
SD	Hz	0,003	0,003	0,002	0,003
	cpm	0,18	0,18	0,12	0,18

* $p < 0,04$ entre jejum e alimentado

** $p < 0,02$ entre jejum e alimentado

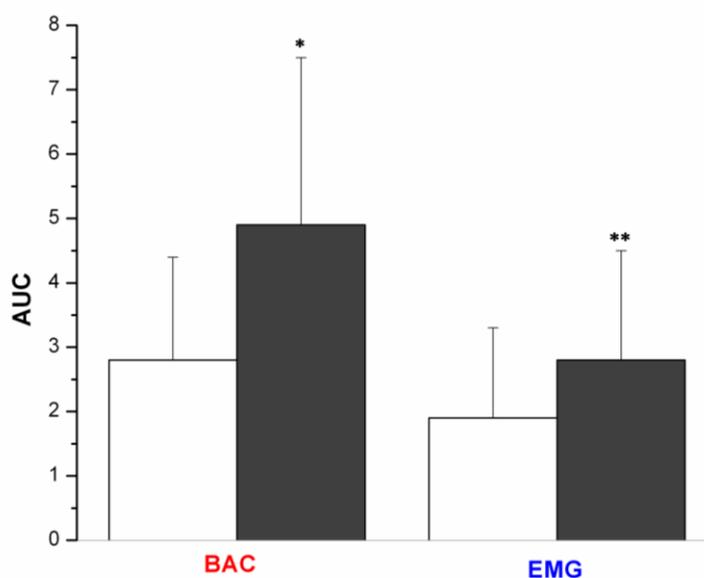
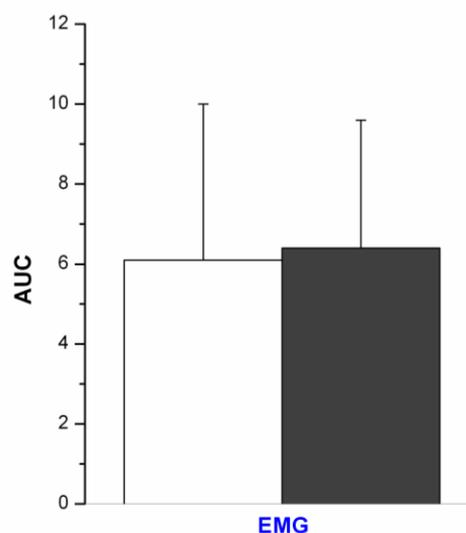


Figura 47: Efeito de uma refeição sobre a amplitude da atividade de baixa frequência. Houve diferença significativa ($*p < 0,02$), para a BAC, comparando-se o período jejum (□) com o período alimentado (■). Os valores representam a média dos resultados de 5 cães e as barras verticais indicam o DP. $**p < 0,08$.

Tabela 17: Atividade de alta frequência contrátil registrada pela EMG no cólon antes e após a refeição

		EMG	
		Jejum	Alimentado
Média	Hz	0,310	0,315
	cpm	18,6	18,9
SD	Hz	0,014	0,013
	cpm	0,84	0,78

**Figura 48:** Efeito de uma refeição sobre a AUC da atividade de alta frequência. Não houve alteração significativa entre o período jejum (□) e o período alimentado (■). Os valores representam a média dos resultados de 5 cães e as barras verticais indicam o SD.

C.3 – Correlação em frequência

A correlação em frequência entre a BAC e o EMG, nos experimentos em jejum e após a alimentação, foi efetuada para a baixa frequência colônica. Observa-se uma alta correlação entre os métodos durante o período de jejum ($r = 0,95$), comparado ao período alimentado ($r = 0,70$).

C.4 – Resposta colônica da atividade motora colônica à refeição

A motilidade do cólon respondeu de modo bifásico a ingestão de uma refeição padronizada (Fig. 49). Um pico precoce, seguido de gradual redução da atividade, que foi mais nítido no registro de EMG do que no de BAC, e uma segunda elevação tardia, cerca de 5 horas após a refeição. Nota-se a semelhança no perfil dos registros obtidos pelas duas técnicas.

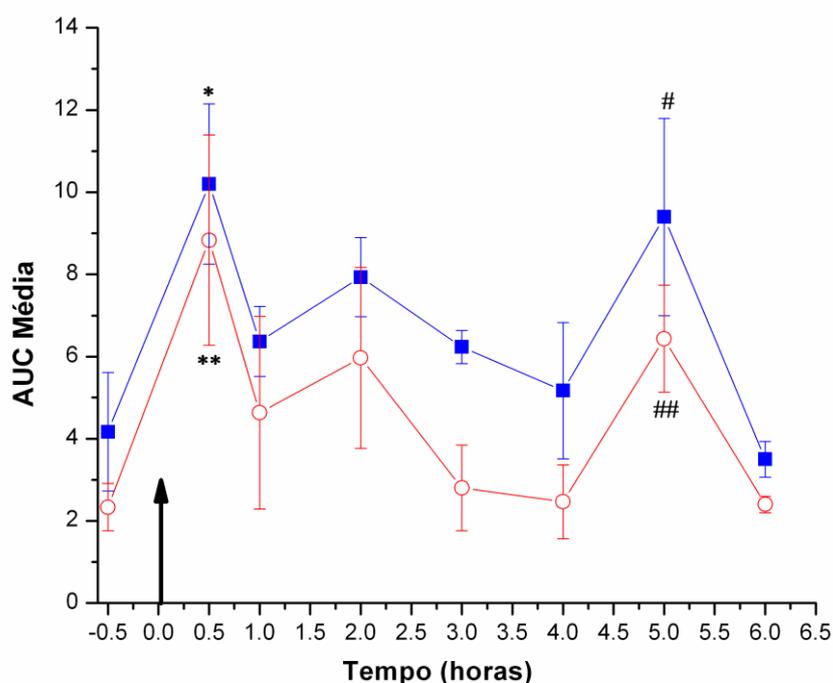


Figura 49: Resposta colônica à refeição (AUC), registrada pela BAC (○) e pela EMG (■), durante 6h. A seta indica o início da ingestão da refeição teste que durou cerca de 5 min. Observa-se o aumento da AUC da motilidade colônica entre o jejum e 25 min após a refeição para o EMG (** $p < 0,06$). O segundo aumento da AUC após 5h de refeição foi significativo em relação ao jejum para a BAC (## $p < 0,05$). * $p < 0,1$ e # $p < 0,2$. Os valores representam a média dos resultados de 5 cães e as barras verticais indicam o DP.

D – Registros gástricos e colônicos obtidos com conjuntos implantados no cólon e no estômago

D.1 – Correlação entre a BAC e a EMG por meio de implantação no estômago distal.

A correlação temporal entre a BAC e a EMG obtida por meio de implantação de marcador magnético e eletrodo no estômago foi de $0,86 \pm 0,08$. Na Figura 50 observa-se, inclusive, a diferença de fase entre o sinal elétrico (EMG – azul) e o sinal mecânico (BAC – vermelho).

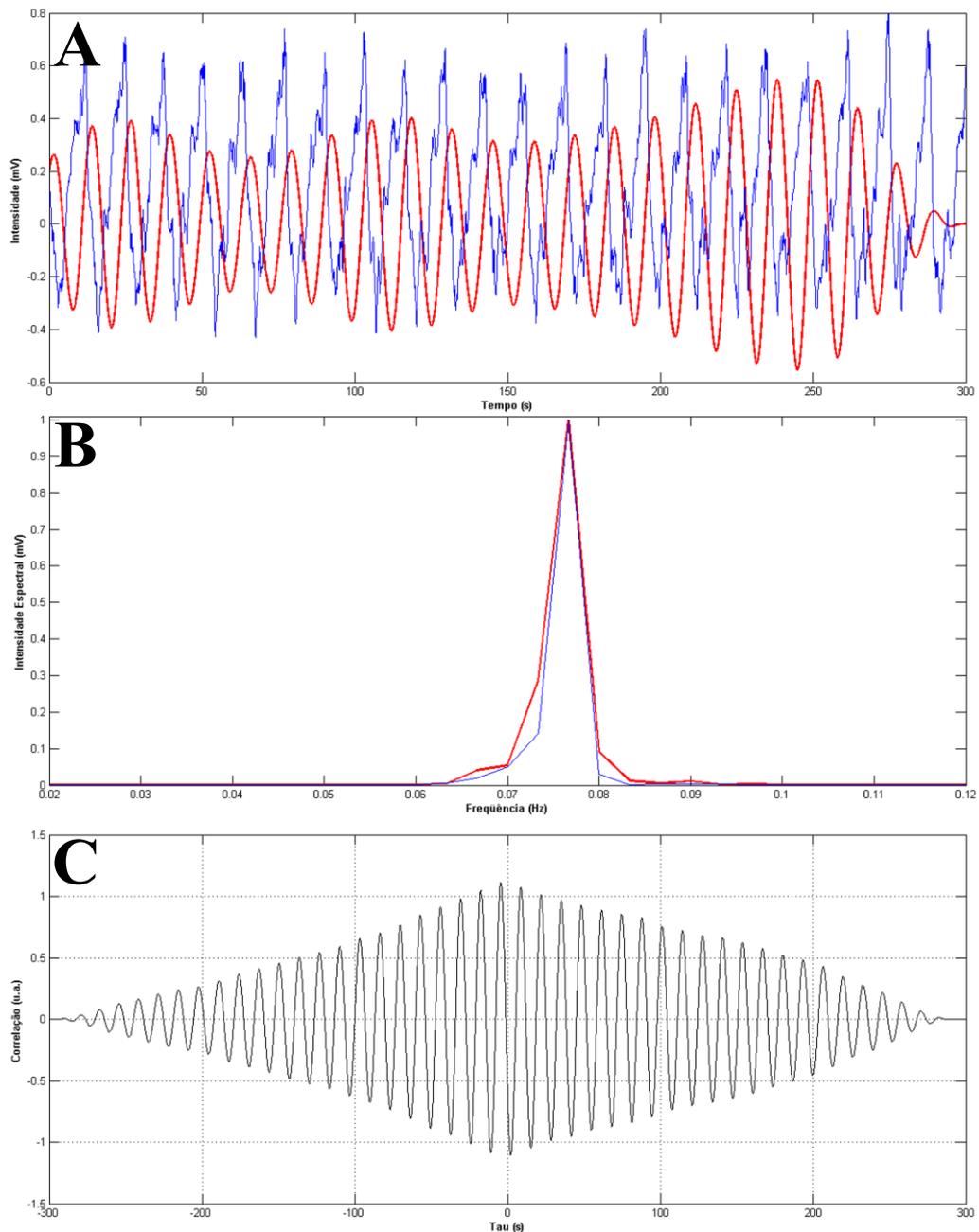


Figura 50: Correlação entre os registros da BAC (vermelho) e da EMG (azul) obtidos através de implantação de marcador magnético e eletrodo no estômago, respectivamente. Em (A) os sinais registrados simultaneamente, em (B) os dois espectros de potências obtidos por meio de FFT e em (C) a correlação temporal entre os dois métodos.

D.2 – Registros obtidos por eletrodos gástricos e EGG

As comparações, durante protocolo empregando EM, entre o eletrodo implantado no estômago e o EGG realizado simultaneamente estão quantificados na Tabela 18. Exemplos de registros realizados, durante o período controle, estão apresentados sem filtragem pela Figura 51 e filtrados pela Figura 52.

Tabela 18: Frequências de contração gástrica registradas pelo eletrodo implantado e pelo EGG simultaneamente

		Controle		EM		Pós-droga	
Média	Hz	0,089	0,086	0,078	0,073 *	0,083	0,083 §
	cpm	5,34	5,16	4,68	4,38	4,98	4,98
SD	Hz	0,008	0,005	0,009	0,002	0,007	0,007
	cpm	0,48	0,30	0,54	0,12	0,42	0,42

* $p < 0,02$ entre EGG controle e EGG na EM

§ $p < 0,05$ entre EGG na EM e pós-droga

Os dados mostraram diferença significativa apenas entre os períodos analisados, mas não entre as duas técnicas de registro elétrico (Tabela 18).

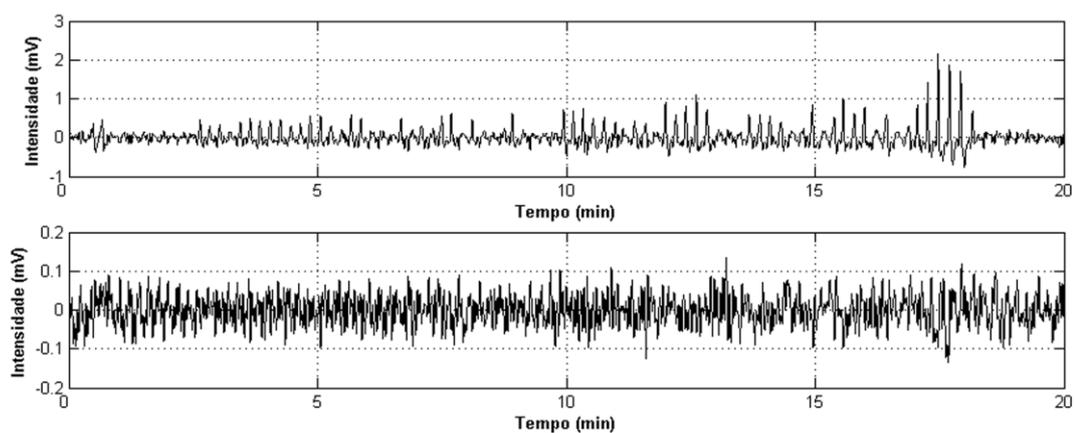


Figura 51: Registros elétricos do estômago de um mesmo animal durante o período controle. O painel superior apresenta um registro proveniente de eletrodo implantado na serosa gástrica, enquanto o painel inferior mostra o EGG simultâneo.

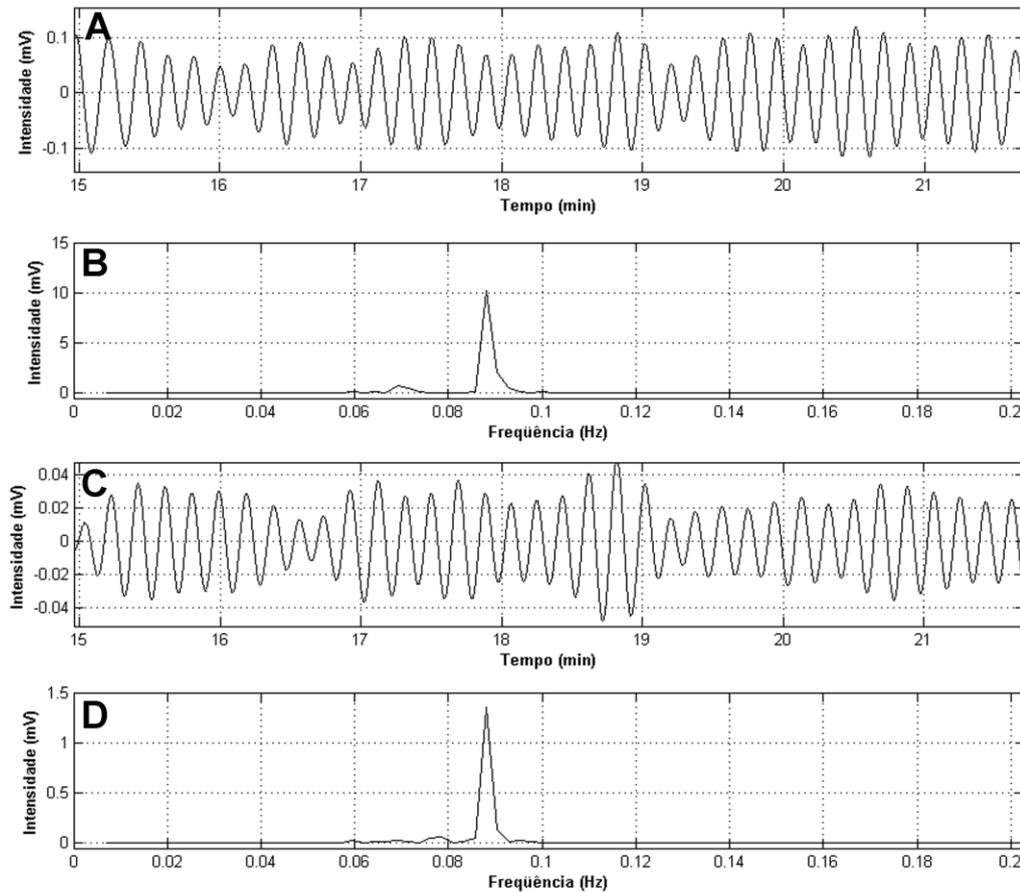


Figura 52: Registros elétricos do estômago de um mesmo animal durante o período controle. Em (A) o sinal registrado pelo eletrodo implantado na serosa gástrica e sua intensidade espectral por meio de FFT (B). Em (C) o registro obtido pelo eletrodo superficial (EGG) e sua intensidade espectral por meio de FFT (D).

D.3 – Interferência entre os registros gástricos e os colônicos

A Figura 53 apresenta registros elétricos de eletrodos implantados gástricos (frequência de 0,08 Hz ou 4,8 cpm) e colônicos (frequência de 0,32 Hz ou 19,2 cpm) obtidos simultaneamente, onde nota-se a nítida interferência de um registro no outro.

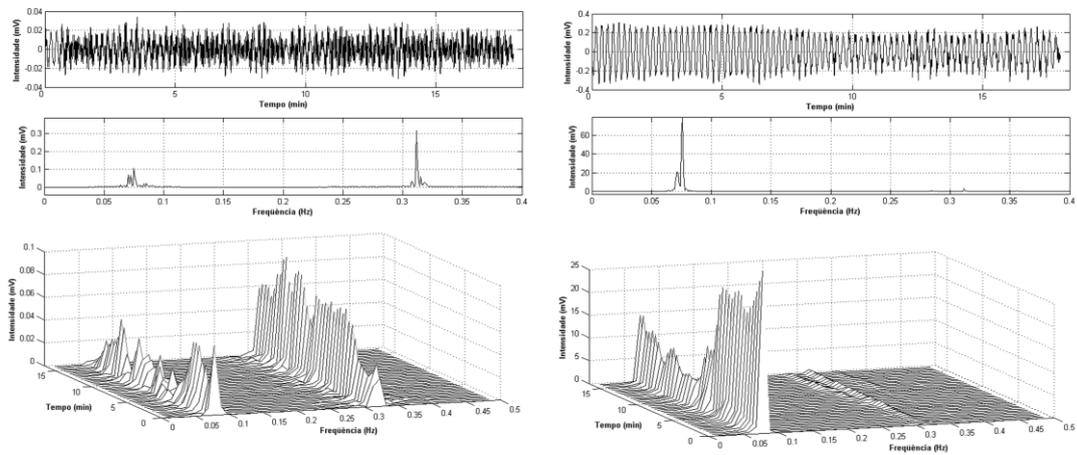


Figura 53: Registros elétricos obtidos simultaneamente por eletrodos implantados no estômago e no cólon. O painel esquerdo apresenta o registro, a intensidade espectral por meio de FFT e a análise espectral de um eletrodo implantado no cólon. O painel direito mostra o registro, a intensidade espectral por meio de FFT e a análise espectral de um eletrodo implantado no estômago.

O detalhe que caracteriza a interferência é que no eletrodo gástrico a frequência que apresenta maior intensidade é a frequência gástrica enquanto a frequência colônica apresenta uma menor intensidade e vice-versa para o eletrodo colônico.

A Figura 54 apresenta frequência característica do estômago (em torno de 0,08 Hz ou 4,8 cpm) obtida pela BAC em um animal com um marcador magnético implantado no estômago (A e E) e em um animal sem marcador implantado no estômago (C e G). Observa-se a nítida interferência de um registro no outro.

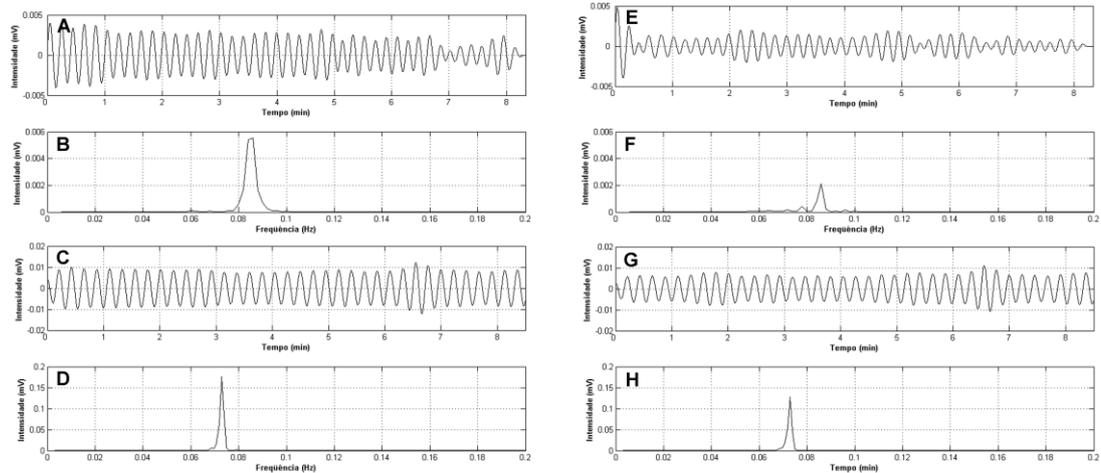


Figura 54: O painel esquerdo representa um sensor de BAC posicionado sobre a projeção gástrica, enquanto o painel direito representa sensor posicionado sobre a projeção colônica durante registro simultâneo. Em (A e E) estão representados os registros de um animal com marcador magnético implantado no estômago e suas respectivas intensidades espectrais por meio de FFT (B e F). Em (C e G) estão representados os registros em um animal sem marcador magnético implantado no estômago e suas potências espectrais por meio de FFT (D e H), respectivamente.

No que concerne à comparação entre técnicas um dado importante é que a relação sinal/ruído média obtida pela BAC de $30 \pm 3,6$ foi maior do que a do EMG de $25 \pm 3,0$ durante períodos de controle.

D.4 – Correlação Temporal entre frequências elétricas gástricas e colônicas

A Figura 55 mostra a correlação temporal, da atividade elétrica de alta frequência colônica, entre os registros provenientes do eletrodo implantado no cólon e do eletrodo implantado no estômago. A correlação para alta frequência colônica apresentou um $r = 0,88$ para um $p < 0,05$. Observa-se o deslocamento temporal da atividade elétrica, que se origina cólon, e depois de alguns segundos é registrado pelo eletrodo gástrico.

A Figura 56 mostra a correlação temporal, da atividade elétrica do estômago, entre os registros provenientes do eletrodo implantado no cólon e do eletrodo implantado no estômago. A correlação para a frequência gástrica apresentou um $r = 0,76$ para um $p < 0,05$. Observa-se o deslocamento temporal da atividade elétrica, que se origina estômago, e depois de alguns segundos é detectada pelo eletrodo colônico.

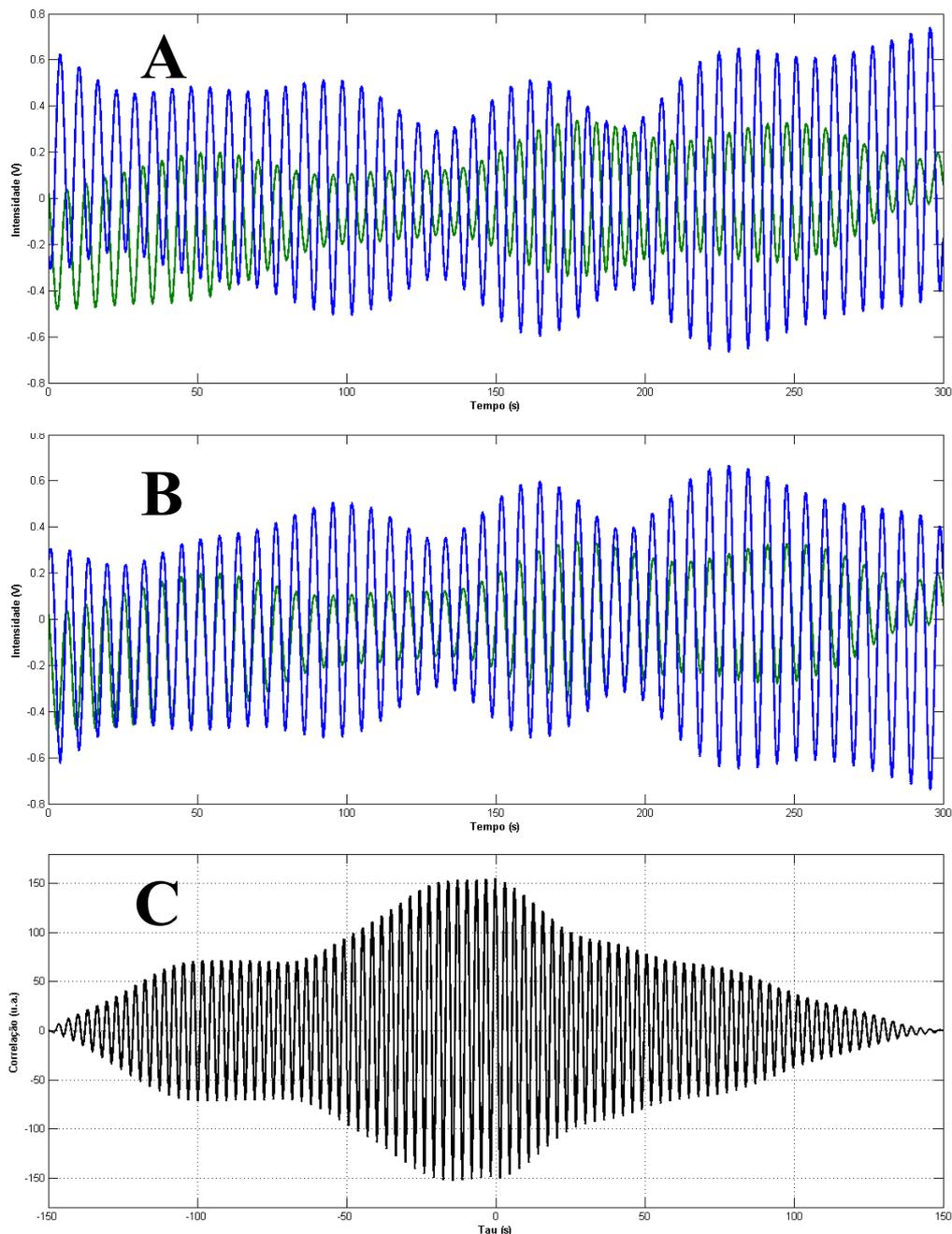


Figura 55: Correlação temporal da atividade elétrica de alta frequência entre registros provenientes do eletrodo implantado no cólon (verde) e do eletrodo implantando estômago (azul). Em (A), sem ajuste de fase, observa-se que o traçado colônico (verde) antecede temporalmente o gástrico (azul). Em (B) os sinais foram ajustados em fase e (C) representa a correlação temporal.

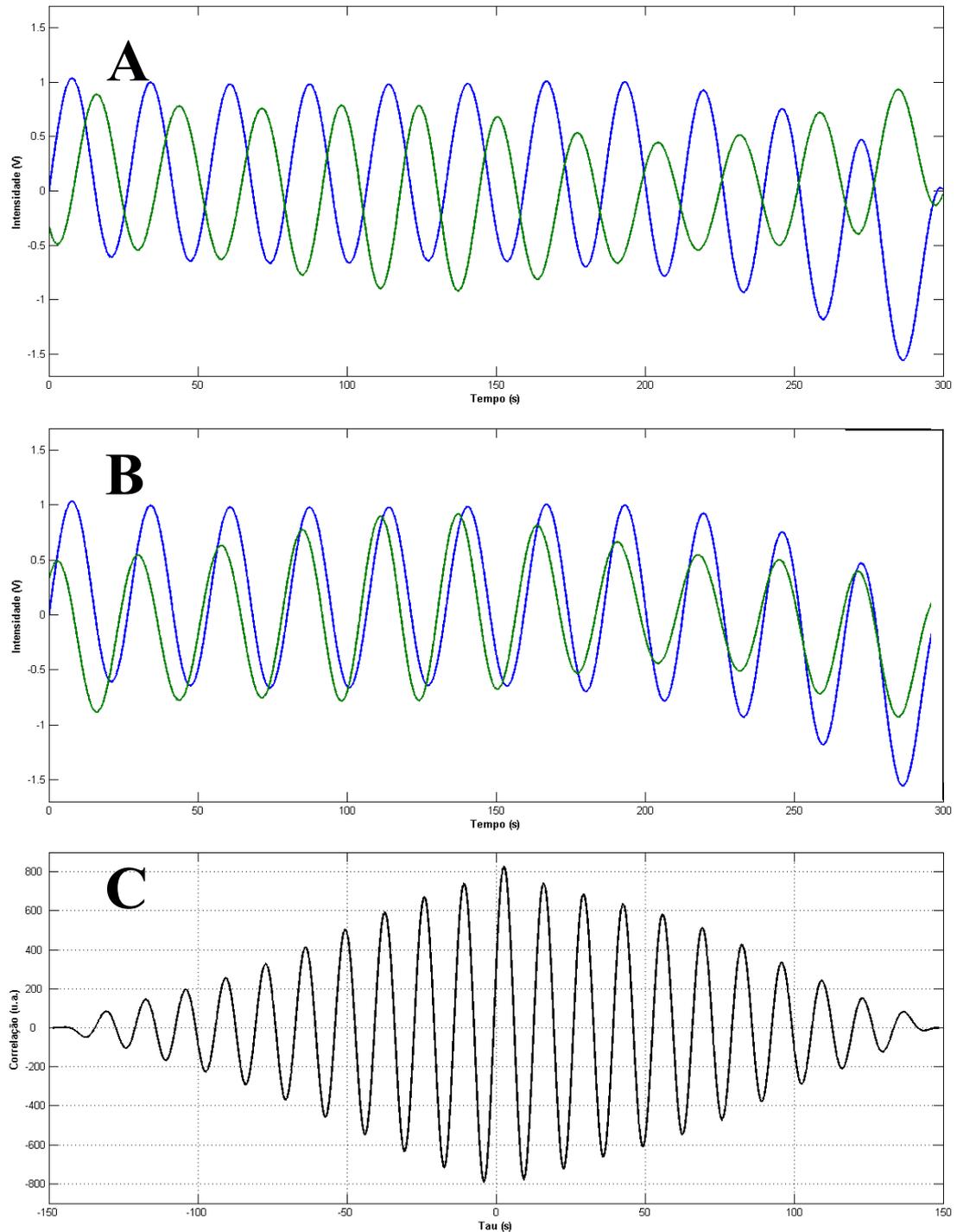


Figura 56: Correlação temporal da atividade elétrica do estômago entre os sinais proveniente do eletrodo implantado no cólon (verde) e a proveniente do eletrodo implantando estômago (azul). Em **(A)**, sem ajuste de fase, observa-se que o traçado em azul antecede temporalmente o verde. Em **(B)** os sinais foram ajustados em fase e a correlação temporal **(C)**.

E – Outros resultados

E.1 – Exemplos de frequências esporádicas

Todos os experimentos apresentaram frequências variáveis como, por exemplo, 30 mHz (Fig. 57), 50 mHz (Fig. 58), 120 mHz (Fig. 59), 150 mHz (Fig. 60), 190 mHz registradas pela BAC (Fig. 61) e pelo EMG (Fig. 62).

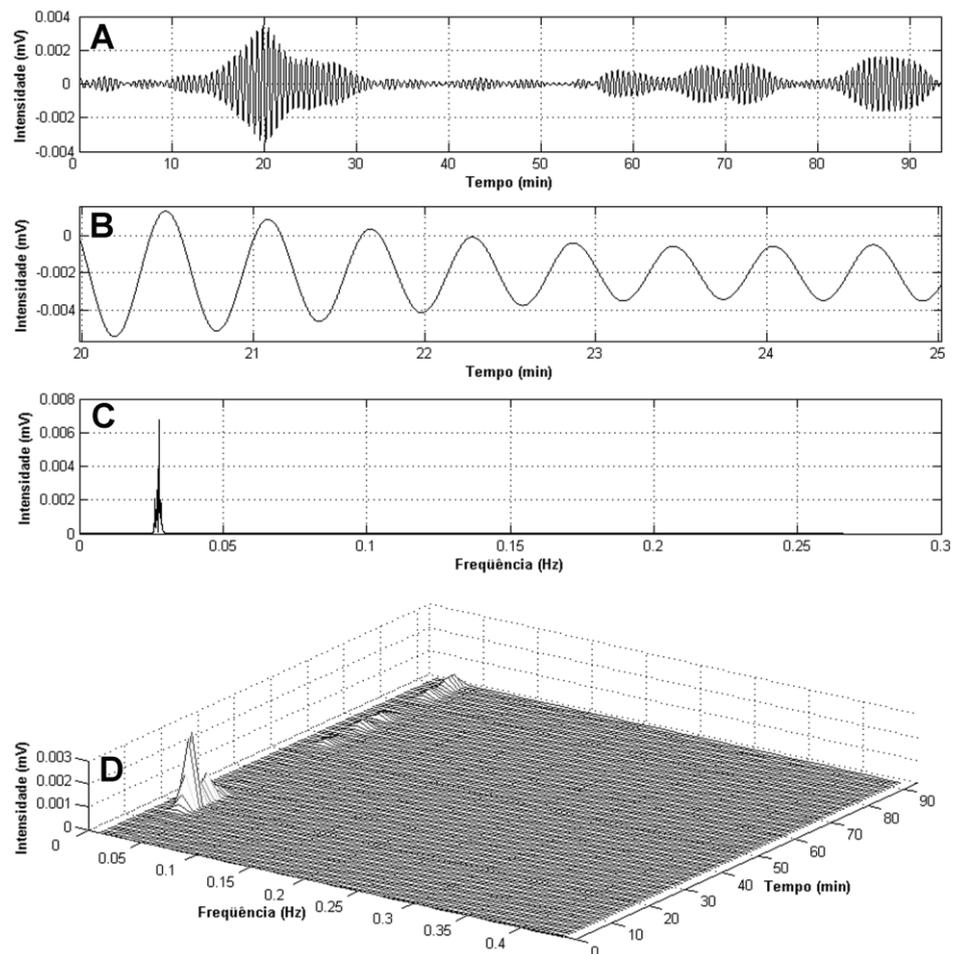


Figura 57: Atividade com frequência de 0,03 Hz (1,8 cpm) registrada no cólon. Em (A) observa-se o registro do sinal dessa frequência colônica, sua ampliação (B) e sua intensidade espectral por meio de FFT (C). Observa-se na análise espectral durante o tempo (D) sua característica temporária.

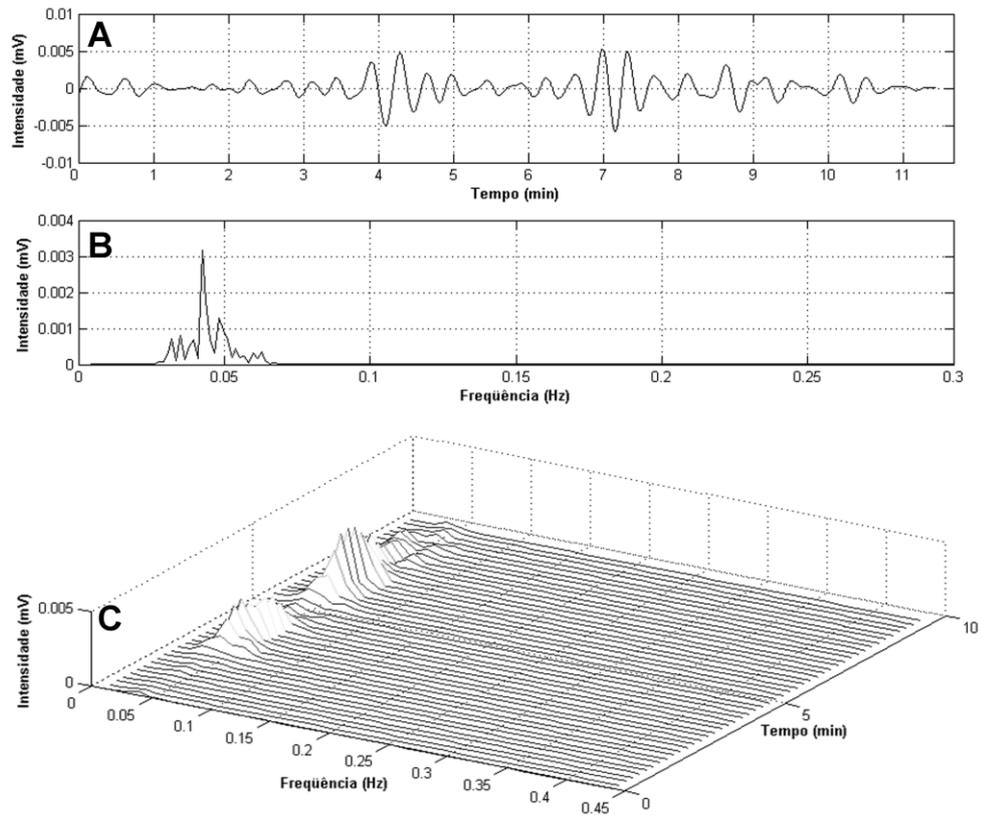


Figura 58: Atividade com frequência de 0,05 Hz (3 cpm) registrada no cólon. Em (A) observa-se o registro do sinal, sua ampliação (B) e sua intensidade espectral por meio de FFT (C). Observa-se na análise espectral durante o tempo (D), que no início do registro essa frequência não foi observada.

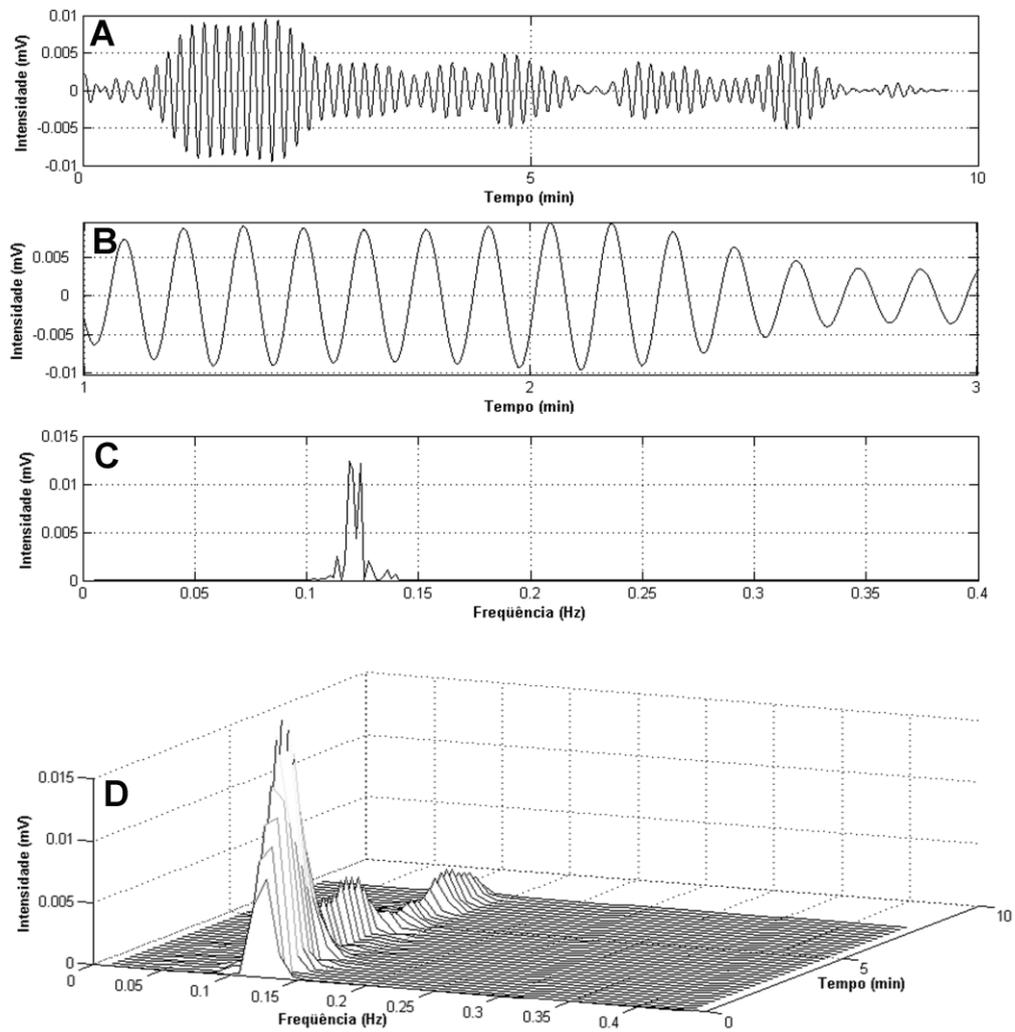


Figura 59: Atividade com frequência de 0,12 Hz (7,2 cpm) registrada no cólon. Em (A) observa-se o registro do sinal, sua ampliação (B) e sua intensidade espectral por meio de FFT (C). Observa-se na análise espectral durante o tempo (D) sua variação em intensidade.

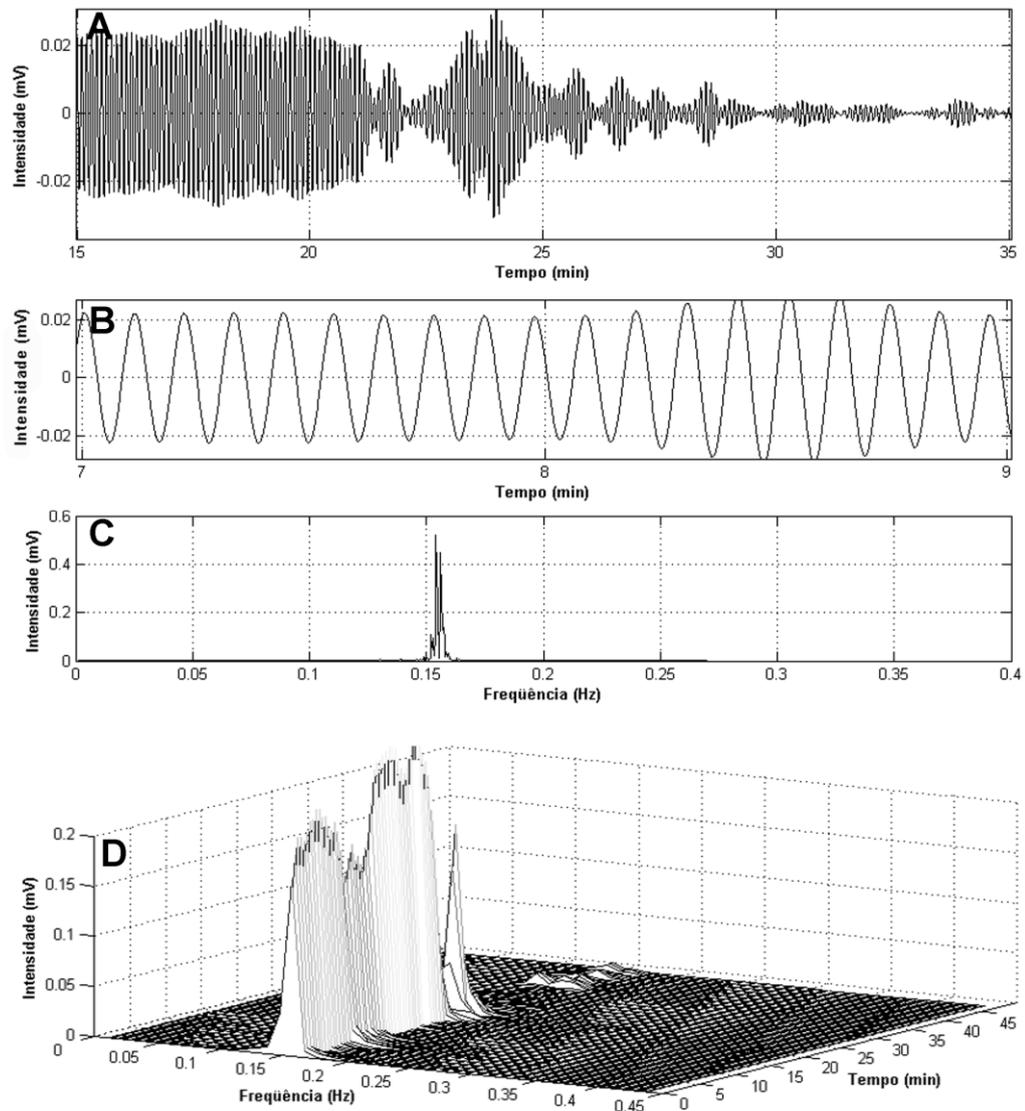


Figura 60: Atividade com frequência de 0,15 Hz (9 cpm) registrada no cólon. Em (A) observa-se o registro do sinal, sua ampliação (B) e sua intensidade espectral por meio de FFT (C). Observa-se na análise espectral no tempo (D) que a frequência, praticamente, desapareceu depois de 25 minutos de registro.

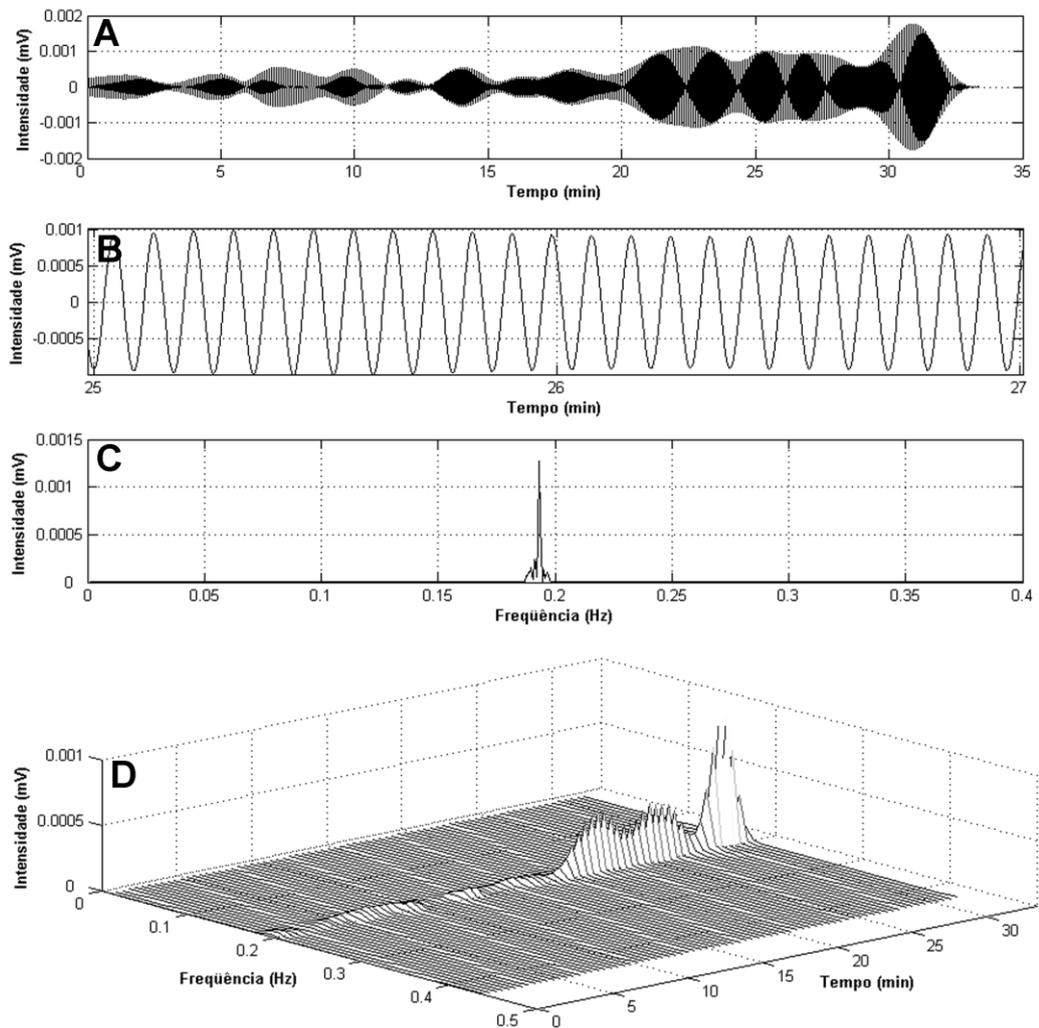


Figura 61: Atividade com frequência de 0,19 Hz (11,5 cpm) registrada pela BAC no cólon. Em (A) observa-se o registro do sinal, sua ampliação (B) e sua intensidade espectral por meio de FFT (C). Observa-se na análise espectral (D) um aumento de intensidade no decorrer do tempo.

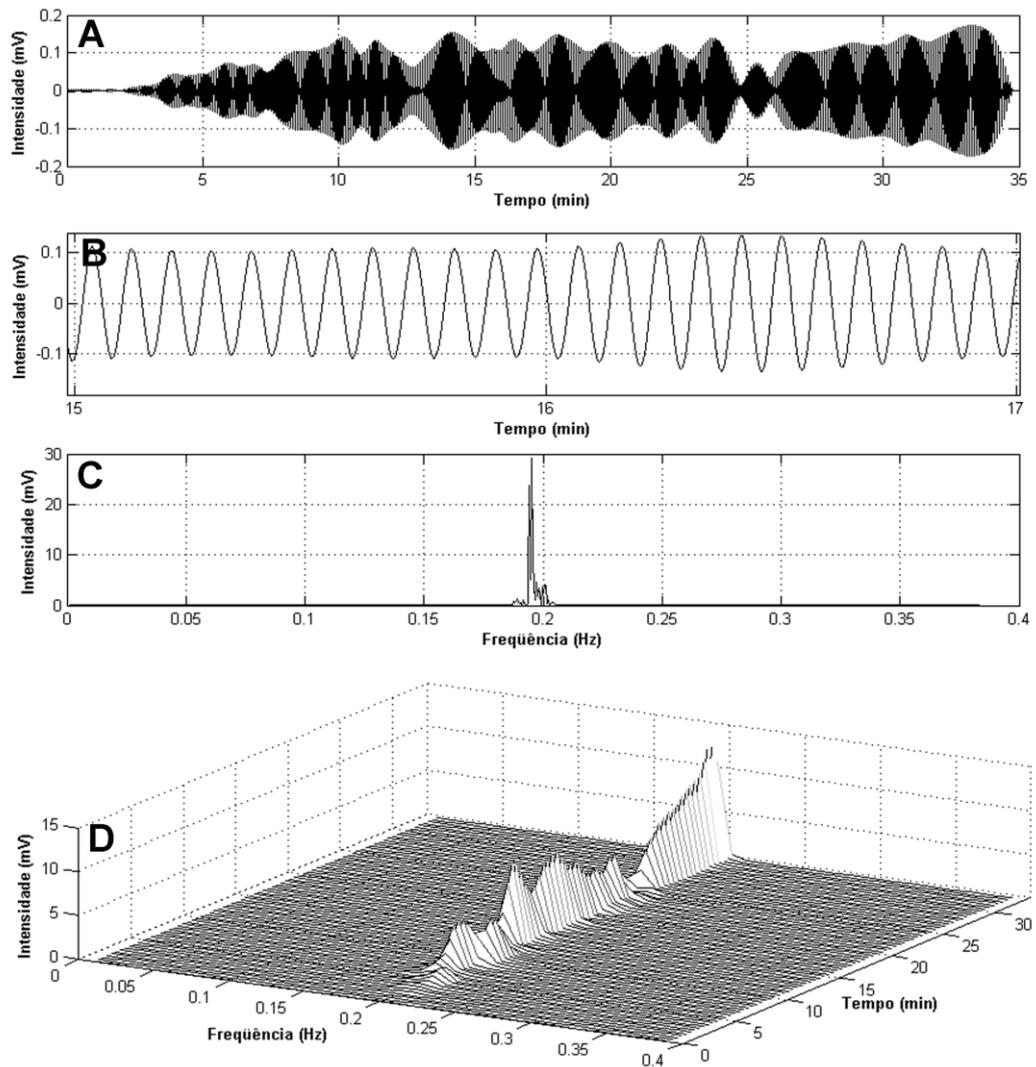


Figura 62: Atividade com frequência de 0,19 Hz (11,5 cpm) registrada pela EMG no cólon. Em (A) observa-se o registro do sinal, sua ampliação (B) e sua intensidade espectral por meio de FFT (C). Observa-se na análise espectral (D) um aumento de intensidade no decorrer do tempo.

E.2 – Permanência dos marcadores magnéticos implantados

Três animais foram novamente reconduzidos ao laboratório, para um mapeamento da intensidade de campo magnético registrado, seis meses após a cirurgia. Os marcadores magnéticos continuavam implantados, sem prejuízo à saúde do animal, indicando que este modelo experimental elétrico e magnético crônico foi bem sucedido. A Figura 63 apresenta registros colônicos obtidos pela BAC, em um mesmo animal, 10 dias após a implantação cirúrgica do marcador magnético e após seis meses.

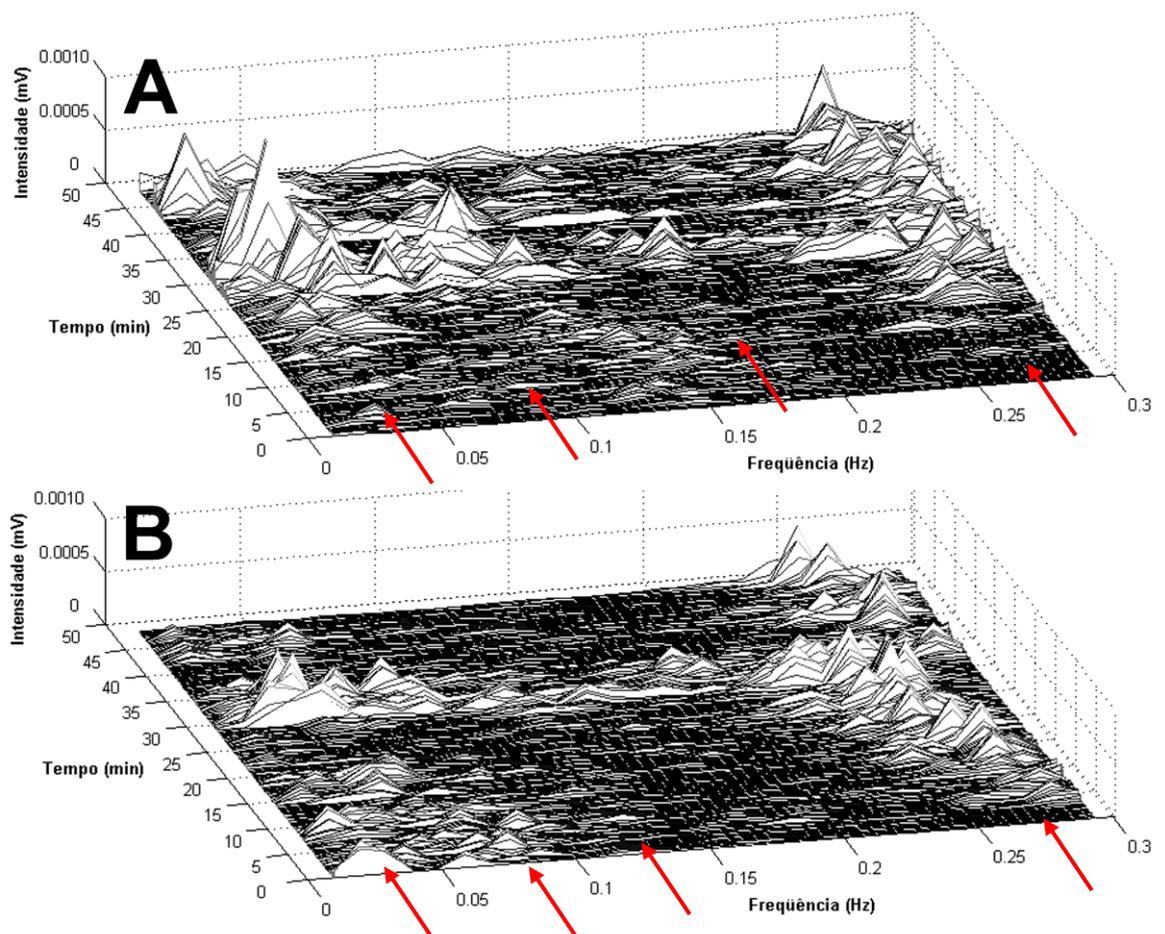


Figura 63: O painel A representa um sensor de BAC posicionado sobre o cólon 10 dias após a implantação do marcador magnético, enquanto o painel B representa o mesmo sensor seis meses após a cirurgia. As setas vermelhas indicam (da direita para a esquerda): frequência característica da respiração, frequência temporária (diferentes perfis nos dois registros), frequência característica do estômago e baixa frequência de atividade colônica.

DISCUSSÃO

*Não há fatos, apenas interpretações!

Nietzsche

5. DISCUSSÃO

Os resultados desse trabalho mostram que a BAC é uma técnica capaz de avaliar atividade motora do TGI de cães. Os experimentos, empregando Prostigmina[®] e Buscopan[®], foram utilizados para testar a capacidade da BAC em registrar a motilidade do TGI, sobre a qual essas drogas têm ação rápida e efeitos bem conhecidos e consistentes (Fig. 19). Assim, apesar de esperados, os resultados foram plenamente satisfatórios para a validação desse modelo animal utilizando a BAC, a EMG e a EGG. A Prostigmina[®], quando utilizada em estudos *in vitro*, apresentou efeitos potentes sobre o cólon (YELLIN; NEWMAN; DONAVAN, 1973), sendo que, nossos dados adicionam mais informações sobre sua ação na motilidade colônica *in vivo*.

A amplitude da atividade colônica mostrou um significativo aumento após a Prostigmina[®], comparado ao controle, e uma redução, também significativa, entre a Prostigmina[®] e o Buscopan[®] (Fig. 20). Não houve diferença entre o período de controle e o de Buscopan[®], provavelmente, por ter sido administrado após a Prostigmina[®], que por sua vez, apresentou efeitos muito intensos. Todas essas alterações foram registradas pela BAC e pela EMG. A atividade colônica de baixa frequência foi significativamente reduzida pela Prostigmina[®], efeito que foi parcialmente diminuído pela administração de Buscopan[®] (Tabela 2), sendo que essas variações foram igualmente detectadas pela BAC e pela EMG. Nessa faixa de frequências, a amplitude das contrações foi significativamente aumentada pela Prostigmina[®] (Fig. 22), esse efeito foi detectado com mais nitidez pela BAC do que pela EMG. Esse efeito da Prostigmina foi anteriormente demonstrado por Sarna

(1980). Vale ressaltar, que o aumento da área sob a curva está diretamente relacionado à diminuição da frequência, pois esta redução torna a área sob essa atividade maior.

A Prostigmina[®] reduziu a atividade colônica de alta frequência, enquanto, o Buscopan[®] parece não ter apresentado efeito (Fig. 24). Considera-se, que a atividade desta faixa de frequência teria origem da camada muscular longitudinal, enquanto as atividades de baixa frequência seriam provenientes da camada circular (SARNA 1991a; HUIZINGA & DANIEL, 1986). Assim, pode-se inferir uma duração maior dos efeitos da Prostigmina[®] sobre a camada longitudinal e com uma potência que, talvez, tenha impedido a ação do Buscopan[®]. A correlação entre a BAC e a EMG para a atividade colônica de baixa frequência, nos experimentos empregando Prostigmina[®] e Buscopan[®], foi razoável, durante o período controle, e aumentou durante a ação da Prostigmina[®] permanecendo elevada após o Buscopan[®] (Tabela 5).

Os efeitos das duas drogas sobre a amplitude de contração do estômago foram semelhantes, em linha geral, aos observados no cólon (Fig. 25). A amplitude da EGG, após a Prostigmina[®], não apresentou aumento significativo, embora a redução provocada pelo Buscopan[®] tenha sido. A BAC revelou tanto um aumento de amplitude pela Prostigmina[®], quanto uma redução pelo Buscopan[®], conforme descrito anteriormente (MORAES et al., 2003).

Os efeitos da eritromicina (EM) sobre o cólon, especialmente *in vivo*, são pouco caracterizados (COSTA et al., 1997) e muito controversos, variando entre um efetivo aumento na motilidade (FEIGHNER et al., 1999; SHARMA; BHARGAVA; MATHUR, 1995) e uma aparente ausência de efeitos significativos (BRADETTE; POITRAS; BOIVIN, 1993; DELVAUX et al., 1994; JAMESON et al., 1992), ao

menos nas mesmas doses utilizadas no TGI superior (BASSOTTI et al., 1998). Uma possível ação pró-cinética da EM no cólon seria de particular interesse para aplicações clínicas, como o tratamento da constipação (NISSAN; FREUND; HANANI, 2002).

Nossos dados (Fig. 26) confirmaram trabalhos anteriores sobre a existência dos efeitos pró-cinéticos da EM no cólon de cães (CHIBA et al., 2000), além dos já comprovados efeitos no cólon do homem e de coelhos (BRADETTE; POITRAS; BOIVIN, 1993; COSTA et al., 1997). Estudos no cólon de coelhos mostram a ação da EM aumentando a motilidade colônica aparentemente de modo dose-dependente (COSTA et al., 1997; HASLER; HELDSINGER; OWYANG, 1992; KOUTSOVITI-PAPADOPOULOU; KOUNENIS; ELEZOGLOU, 1994). Os resultados obtidos por alguns estudos colônicos em cães, no entanto, dificilmente poderiam ser comparados, já que as doses utilizadas são muito variáveis. Considerando o cólon de cães, por exemplo, Otterson e Sarna (1990) empregaram 1, 10 e 25 mg/kg, enquanto Chiba et al. (2000) utilizaram 0,05, 0,5 e 2,0 mg/kg de EM e Holle, Steinbach e Forth (1992) empregaram apenas uma dose de 10 mg/kg de EM. Deve-se considerar ainda um limite na dose máxima a ser utilizada, pois doses altas de EM estão associadas à náusea, vômito e diarreia (DiBAISE et al., 2001; VARANNES et al., 1995). Por essas razões, neste estudo, foram utilizadas doses dentro da faixa citada anteriormente. A dose máxima adotada foi de 10 mg/kg, quando os efeitos colaterais começariam a inviabilizar os experimentos, pois alguns cães apresentaram cólicas e, em alguns casos, defecaram.

A relação entre dose e efeito é avaliada pela constatação referente à velocidade com que o cólon responde às diferentes doses administradas, ou seja,

quanto maior a dose mais rápida, intensa e duradoura é a resposta (Fig. 27). As variações de atividade motora ao longo do tempo, causadas pelas diferentes doses de eritromicina e registradas pela BAC, guardam grande semelhança com aquelas registradas pela EMG; ambas revelam claramente a relação entre dose e resposta. Há, entretanto, diferenças ligeiras, mas nítidas, entre os perfis de atividade motora registrados após a dose mais elevada de eritromicina (Fig. 28). Nota-se que a elevação de atividade motora durante a injeção é mais rápida e a redução de atividade, que se segue à máxima é mais lenta, conforme o registro de EMG. Percebe-se, também, pela inclinação da curva “dose-resposta” que o cólon respondeu à dose de 10,0 mg/kg da EM com grande intensidade, logo no início da infusão. Não houve resposta imediata à administração da dose de 0,4 mg/kg, ao contrário do que ocorreu com as doses de 2,0 e de 10,0 mg/kg.

É interessante notar que a duração total da resposta à eritromicina também foi dependente da dose utilizada, como descrito anteriormente (JARVIE et al., 2007). Nossos dados mostram que para a dose de 10,0 mg/kg a duração total foi de 17 minutos para BAC e 18 minutos para a EMG (Fig. 28 e 29). Em contrapartida, vários estudos *in vitro* mostraram que a EM não é capaz de evocar contração de longa duração (DASS et al., 2003), razão pela qual se considera que a atividade pró-cinética dos receptores de motilina é de curta duração (THIELEMANS et al., 2005).

A amplitude registrada pela BAC e pela EMG no cólon, sem a frequência característica do estômago, mostrou um significativo aumento após a dose de 10,0 mg/kg de eritromicina comparada à dose 0,4 mg/kg (Fig. 29 e 30). No entanto, o perfil das curvas dose-resposta colônicas mostra certa diferença entre as técnicas (Fig. 31). Quando se incluem as frequências gástricas na análise, observa-se uma redução

da variação da AUC entre as doses e, também, entre as duas técnicas, tornando ambas as respostas muito semelhantes (Fig. 32). Isso parece significar que a atividade motora do estômago tem grande influência sobre os sinais colônicos, reforçando a necessidade de retirar as frequências tipicamente gástricas das análises. Nesse sentido, convém confrontar essas curvas dose-resposta, que incluem as frequências gástricas, com aquelas obtidas apenas para a faixa típica do estômago (Fig. 43). No estômago e no intestino delgado as atividades elétricas e mecânicas podem ser registradas em fase entre a camada muscular circular e a longitudinal (SMITH; REED; SANDERS, 1987). O perfil das curvas dose-resposta do estômago é o mesmo para a EGG e para a BAC evidenciando um acoplamento eletromecânico muito alto. Para o cólon, o registro elétrico e mecânico simultâneo é extremamente difícil, pois além do pobre acoplamento entre a atividade elétrica e motora das camadas musculares, tem-se uma acentuada diferença na frequência de oscilação dessas duas camadas (HUIZINGA & DANIEL, 1986).

A inclinação da curva “dose-resposta”, freqüentemente, é usada para medir a sensibilidade de um sistema aos aumentos de dose. Em uma curva dose resposta padrão espera-se um fator de inclinação igual a 1,0 devido a uma relação homogênea entre a resposta e a ocupação de receptores (CARPENTER, 1986). Um fator de inclinação maior reflete uma curva mais íngreme e pode ser observado nas curvas dose-resposta colônicas, registradas pela BAC, onde pequenas variações na dose administrada representam grande variação na amplitude. Para as curvas dose-resposta colônicas registradas pela EMG o fator de inclinação é próximo de 1,0 indicando homogeneidade entre a dose administrada e a resposta registrada. Para o estômago o fator de inclinação é muito próximo de 1,0, tanto para a BAC, quanto

para o EGG indicando variações proporcionais entre o aumento de dose e a resposta. O EC_{50} indica a concentração da droga que produz metade da resposta máxima. Nos resultados observa-se, para as curvas colônicas da EMG, que o EC_{50} é quase o dobro daquele obtido para a BAC. Nas análises que incluíram o estômago, de forma isolada ou associada ao cólon, têm-se valores muito semelhantes de EC_{50} , mais uma vez sinalizando para a forte articulação entre atividade elétrica e motora que ocorre no estômago (Figs. 32 e 43).

O perfil de frequência contráctil nos experimentos com EM, foi agrupado em oito faixas principais (Tabela 6), sendo que, devido a grande quantidade de estudos desse protocolo, foi possível quantificar a faixa entre 0,04 e 0,05 Hz (2,4-3 cpm). A quantificação da atividade colônica de baixa frequência mostrou que a EM, independente da dose administrada, tem pouco efeito nessa faixa (Tabela 7). Houve uma redução da atividade entre o período EM e o pós-droga na dose de 10,0 mg/kg para a BAC, indicando que os efeitos dessa dosagem persistem durante o período pós-droga. No entanto, na dose de 10,0 mg/kg a variação da amplitude aumenta para a BAC e diminui para a EMG. A ação da EM em reduzir a frequência das contrações do estômago é bem conhecida (HOLLE; STEINBACH; FORTH, 1992), e os nossos resultados indicam que o mesmo ocorre no cólon. Esse fenômeno ocorreu, também, para a Prostigmina[®] (Fig. 25). Um estudo anterior, comparando os efeitos da eritromicina aos da Prostigmina[®], foi realizado no TGI superior de cães não anestesiados (HOLLE; STEINBACH; FORTH, 1992). Nesse trabalho uma única dose de eritromicina (10,0 mg/kg), administrada durante um longo período, foi comparada à administração de 2 ml de Prostigmina[®]. Os resultados mostraram que a Prostigmina[®] tem efeito mais lento e menos potente em aumentar a motilidade

gástrica de cães (HOLLE; STEINBACH; FORTH, 1992). Convém ressaltar que, a dose de 10 mg/kg de EM foi comparada ao dobro da Prostigmina[®] utilizada em nosso estudo. Nossos dados mostraram que o efeito de 1 ml de Prostigmina[®] foi semelhante àquele obtido após a dose de 10 mg/kg de EM, inclusive provocando diminuição na atividade colônica de alta frequência. Infere-se que na faixa de atividade colônica de baixa frequência o aumento na motilidade, provocado pela dose de 10,0 mg/kg, e observado apenas na análise da amplitude para a BAC, decorre de alterações na relação entre a atividade elétrica e a mecânica.

A frequência na faixa entre 0,04 e 0,05 Hz (2,4 e 3 cpm) (Fig. 35), caiu significativamente entre o controle e período de EM, para dose de 10,0 mg/kg, e aumentou para o período pós-droga, comparado com o período EM, apenas para a BAC (Tabela 8). A amplitude para a mesma faixa de frequência apresentou aumentos significativos entre a dose de 0,4 e a de 10,0 mg/kg para as duas técnicas (Fig. 36). Nessa faixa de frequência, a EMG responde à variação na dosagem de EM de modo semelhante à BAC, ao contrário do que ocorreu para a baixa frequência. A EM reduziu significativamente a atividade colônica de alta frequência durante o período EM na dose de 0,4 com a mesma tendência para a dose de 10,0 mg/kg (Tabela 9). Outra tendência é a volta da frequência aos valores de controle durante o período pós-droga, exceto para a dose de 10,0 mg/kg. Nesta dosagem, os animais ainda apresentaram alta frequência menor do que no período controle, indicando um efeito mais duradouro da droga (Fig. 38).

As variações de amplitude observadas, analisando-se a atividade de baixa frequência, parecem ser comparativamente maiores na BAC do que na EMG (Fig. 34). Sarna (1986), utilizando conjuntos compostos por “*strain-gauge*” e eletrodos

implantados, constatou que as contrações de longa duração (0,008-0,03 Hz ou 0,5-2 cpm) estavam associadas ao complexo elétrico de contração (CEC com oscilações elétricas entre 0,28 e 0,6 Hz ou 17 e 40 cpm), enquanto as contrações de curta-duração (0,06-0,1 Hz ou 4-6 cpm) associavam-se à atividade elétrica de controle (ECA) na mesma frequência das contrações (EL-SHARKAWY, 1983). A frequência de oscilação do CEC pode ser alta para a capacidade do músculo de relaxar entre cada despolarização, resultando em acumulativas adições de amplitude sobre uma contração de longa duração (SARNA, 1991a). Além disso, diversos estudos apontam para o fato de que as oscilações elétricas até 12 cpm teriam uma correspondência de 1:1 com as contrações motoras colônicas. Acima dessa frequência, as oscilações elétricas teriam como contrapartida 1-3 contrações por minuto (HUIZINGA & DANIEL, 1986; SARNA, 1991a). Pode-se presumir que na faixa de baixa frequência a contração mecânica, proveniente da atividade elétrica de baixa frequência (camada circular), sobrepõe-se àquela proveniente da atividade elétrica de alta frequência (camada longitudinal).

A EM parece exercer sua atividade pró-cinética facilitando a função colinérgica entérica, ou seja, aumentando a liberação de acetilcolina por meio de estimulação pré-juncional (JARVIER et al., 2007). Nesse sentido, Keef et al. (1992) demonstraram que o cólon responde ao aumento de acetilcolina com frequência contráctil de 1-3 cpm. Isso explicaria porque os pró-cinéticos aumentaram mais a variação de amplitude na atividade de baixa frequência registrada pela BAC do que a da EMG. Essas inferências advêm do fato de apenas a EMG detectar frequências colônicas acima de 0,2 Hz (12 cpm) e da BAC apresentar uma variação em amplitude da atividade de baixa frequência maior. Frequências colônicas abaixo de

0,2 Hz (12 cpm) foram registradas pela BAC e pela EMG (Figs. 58, 59 e 60). Todos esses dados estão em conformidade com os trabalhos de Huizinga e Daniel (1986) e Sarna (1991a) e com as classificações das atividades eletromotoras, propostas para cada camada muscular citada acima. Vale ressaltar, que a BAC registrou frequências maiores do que 0,3 Hz nos experimentos, como as provenientes da atividade respiratória. Dessa forma, descartando, uma possível incapacidade da técnica em registrar altas frequências.

Os registros comparativos entre a EGG e a BAC da Figura 39 devem ser encarados com cautela, visto que, nesse caso, a medida realizada pela BAC foi indireta, já que, o marcador magnético estava implantado apenas no cólon. Entretanto, observa-se a nítida a relação de dependência entre a dose de eritromicina administrada e seus efeitos no estômago. Diversos estudos demonstraram essa relação no homem e no cão, embora empregando doses diferentes de EM (COULIE et al., 1998; HOLLE; STEINBACH; FORTH, 1992). Interessante observar, que a duração total da resposta gástrica para a dose de 10,0 mg/kg é maior do que aquela registrada no cólon (Figs.40 e 27). Para as doses de 2,0 e 0,4 mg/kg a duração da resposta gástrica é menor na BAC e maior na EGG, em relação ao cólon (Fig. 41). Esses resultados parecem reforçar a hipótese de que essa dependência da dose para induzir efeitos provavelmente reflete a ativação de vias diferentes colinérgicas diferentes (COULIE et al., 1998; PARKMAN et al., 1995). O tempo necessário para que ocorra a resposta máxima, registrado pela BAC para a dose de 10,0 mg/kg, é praticamente idêntico no estômago e no cólon (Fig. 41 e 28). Para as outras doses, o tempo é menor no estômago, confirmando a noção de que doses menores têm ação gástrica rápida, sem efeitos colaterais visíveis e de curta duração (JANSSENS, 1990;

COULIE et al., 1998). As três doses de EM reduziram significativamente a frequência gástrica entre o período controle e o período EM (Tabela 10). A frequência só aumentou no período pós-droga, em relação ao período EM, após a dose de 0,4 mg/kg, confirmando a transitoriedade do efeito sobre a motilidade gástrica nessa dosagem. Nesses experimentos a correlação, entre a EMG e a BAC, em relação às frequências, mostrou-se fortemente dependente da dose de EM utilizada. Analisando a atividade colônica de baixa frequência, durante o período de controle, tem-se uma alta correlação (Tabela 11). Nessa faixa de frequência, durante a EM, a correlação entre BAC e EMG depende da dose administrada, enfatizando o efeito da droga nas relações elétricas e mecânicas. Para essa faixa, no período pós-droga, essas relações entre BAC e EMG ainda encontram-se sob efeito da dose de EM aplicada. Para a faixa de 0,04-0,05 Hz (2,4-3 cpm) há uma correlação mediana durante o período controle (Tabela 12), enquanto à dose de 10 mg/kg de EM associa-se uma alta correlação entre as técnicas, tanto no período EM, quanto no período pós-droga. Nesta faixa de frequência, durante e após a dose de 0,4 mg/kg, ocorre exatamente o contrário do descrito para a dose maior. Parece pertinente supor, nesse caso, que altas doses de EM diminuem a correlação entre a BAC e a EMG na atividade colônica de baixa frequência, enquanto melhoram a correlação para a faixa de 0,04-0,05 Hz. Esses efeitos podem ser observados em vários registros, onde é possível observar que essa faixa de frequência foi reforçada pela administração da EM (Fig. 57). Concluindo, e considerando apenas o período de controle, tem-se uma alta correlação entre BAC e EMG para a atividade de baixa frequência, valores intermediários de correlação para a atividade com a frequência entre 0,04 e 0,05 Hz e ausência de correlação para a atividade de alta frequência, que não foi detectada pela

BAC. Essas correlações parecem enfatizar as relações eletromecânicas descritas anteriormente, pois reforçam a capacidade da BAC em registrar a atividade motora colônica.

Protocolos empregando cães não anestesiados foram exequíveis devido à docilidade dos animais e ao treinamento repetitivo (Fig. 14). Tal condicionamento permitiu que fossem realizados registros sem a utilização de anestésicos, variando-se o estado prandial dos animais. A ingestão da uma refeição teste causou uma prolongada alteração nos padrões de motilidade colônica observados no jejum (Fig. 45), o que foi consistente com estudos anteriores (SCOTT et al., 1995; FIORAMONTI & BUENO, 1983). Em resposta à alimentação, houve aumento da frequência de contração gástrica registrada pela EGG e uma tendência de aumento registrada pela BAC (Tabela 14). A amplitude da atividade motora gástrica aumentou após a refeição teste para as duas técnicas (Fig. 44). A amplitude colônica e a amplitude para a atividade de baixa frequência apresentaram o mesmo perfil de aumento significativo da motilidade após a refeição, enquanto na atividade de alta frequência esse aumento não passou de uma pequena tendência (Figs. 46 e 47). Considerando-se a atividade colônica de baixa frequência, observou-se uma correlação maior entre os métodos durante o período de jejum do que durante o período alimentado.

Em estudos prévios, a resposta colônica à alimentação difere da resposta do estômago e do intestino delgado por duas razões principais: 1) a refeição entra em contato direto com o TGI superior poucos minutos depois da ingestão, enquanto demora, no mínimo, 2 h para alcançar o cólon; 2) quando o quimo chega ao cólon pode levar várias horas para atravessá-lo inteiramente, tornando as respostas

diferentes para cada segmento (SARNA, 1991b). Em diferentes estudos prévios, a resposta colônica à alimentação em cães foi dividida em períodos, com duração muito variável, de acordo com o protocolo experimental empregado (SARNA, 1991b; SCOTT et al., 1995). A primeira fase pós-prandial começa logo após a ingestão da refeição com aumento da motilidade e duração entre 5 minutos e 1 hora (SARNA, 1991b; SCOTT et al., 1995). A segunda fase inicia-se logo na seqüência, com duração de cerca de 2 h, e inibição da motilidade colônica (FLOURIE et al., 1989; SCOTT et al., 1995; FIORAMONTI & BUENO, 1983). Há uma terceira fase com duração de várias horas e aumento significativo da amplitude e da frequência contráctil (FIORAMONTI & BUENO, 1980b; SARNA & LANG, 1989). Em nosso estudo, a resposta colônica à alimentação (Fig. 49), avaliada no tempo, mostrou dois interessantes aumentos da amplitude, comparados ao período de jejum: durante a primeira medida (30 minutos após a ingestão da refeição teste) e durante a penúltima medida (5 horas após a ingestão da refeição). Nossos dados podem ser corroborados pelos estudos de Atassanova, Noeva e Gachilova (1991), que registraram um aumento da atividade motora colônica imediato e um aumento entre 4 e 5 horas após a refeição. O primeiro aumento significativo da motilidade colônica após a refeição, em nossos resultados, reflete a primeira fase pós-prandial, entretanto com duração maior do que a relatada em alguns estudos (SARNA & LANG, 1989). O segundo aumento da motilidade parece refletir a terceira fase pós-prandial com a chegada da refeição ao cólon, considerando um trânsito orocecal de 2-6 horas. Além disso, uma duração mais curta ou mais longa das fases pode estar associada ao tamanho ou à composição da refeição (SCOTT et al., 1995). A refeição teste de 350 Kcal, utilizada em nosso estudo, foi capaz de provocar uma resposta colônica, apesar de

relativamente pouco calórica. Segundo alguns autores, a ingestão de refeições pouco calóricas não desencadearia nenhuma resposta colônica (SARNA & LANG, 1989).

Em relação às frequências contrácteis, alguns investigadores têm desprezado os eventos de baixa frequência (HUIZINGA & DANIEL, 1986). Contrações em torno de 1 cpm estiveram presentes na maioria dos nossos registros e podem ser observadas em vários exemplos (Fig. 21 e 32). Há grande interesse em verificar se a frequência em torno de 1 cpm registrada reflete verdadeiramente uma atividade mielétrica proveniente do cólon (CHANG et al., 2007). A existência de frequências entre 0,008 e 0,042 Hz (0,5 e 2,5 cpm) foram relatadas em alguns estudos (PEZZOLLA et al., 1989) e descartadas por outros (KAIHO et al., 2000). Como essa frequência também foi registrada no estômago, sua presença na análise espectral seria um artefato inerente ao registro, já que o TGI não teria condições de produzir uma frequência de contração tão baixa (VERHAGEN et al., 1999; CHANG et al., 2007). Neri, Phillips e Fich (1991) avaliaram o tônus colônico de cães empregando um balão acoplado a um sistema barostático (AZPIROZ & MALAGELADA, 1985). Nesse trabalho fica nítida a presença das denominadas ondas de volume, com frequência em torno de 0,016 Hz (1 cpm), e consideradas atividade tônica do TGI (NERI; PHILIPS; FICH, 1991). Recentemente, essas “ondas de volume” foram detectadas por outras técnicas, além do barostato, evidenciando-se sua condição de atividade fásica (ALLOCA & PENAGINI, 2004). Estudos recentes confirmaram a presença de contrações de baixa frequência no estômago humano (ALLOCA & PENAGINI, 2004; AMÉRICO et al., 2007; SIMRÉN et al., 2003), através de diferentes técnicas de registro e de análise, tornando verossímil o conceito de que os órgãos do TGI seriam capazes de produzi-las.

Apesar de muito variável, a faixa de atividade colônica de alta frequência, detectada em nossos registros (Fig. 23 e 37), é relatada na maioria das classificações adotadas em cães para os estudos colônicos (EL-SHARKAWY, 1983; KEEF et al., 2002; LANGTON et al., 1989; LORD; HUTTON; WINGATE, 1980; LIU et al., 1998; REDDY; COLLINS; DANIEL, 1987; SABOURIN; KINGMA; BOWES, 1990; SMITH; REED; SANDERS, 1987; WANG & CHEN, 2001). Alguns autores levantaram a hipótese dessa alta frequência contrátil ter origem no intestino delgado (FIORAMONTI et al., 1980a). No entanto, isso parece improvável considerando nossos experimentos. A configuração muscular do intestino delgado é muito parecida com a do estômago (SMITH; REED; SANDERS, 1987), de modo que, se essa atividade de alta frequência fosse proveniente desse segmento provavelmente responderia como o estômago aos estímulos apresentados. Nossos resultados, com a Prostigmina[®] e com a dose de 10,0 mg/kg de eritromicina, mostraram que essa atividade de alta frequência responde de modo totalmente diferente do estômago, ou seja, com redução da frequência contrátil e da amplitude (Figs. 37, 38 e 42). Apenas estudo do efeito da refeição, e empregando uma refeição pouco calórica como estímulo, essa atividade colônica de alta frequência teve perfil ligeiramente semelhante ao gástrico (Fig. 48 e 42). Diversas hipóteses podem ser lançadas para explicar as respostas dessa atividade colônica de alta frequência às drogas. Na ausência de estimulação, as duas camadas musculares são independentes, mas após uma estimulação colinérgica, ambas parecem aumentar sua atividade coordenada (SABOURIN; KINGMA; BOWES, 1990). Entretanto, há estudos *in vitro* mostrando, que agonistas colinérgicos reduzem a frequência de contração, sem alterar o acoplamento entre as camadas musculares (SHEARIN; BOWES; KINGMA, 1978).

Animais que tiveram conjuntos de eletrodos e marcadores magnéticos implantados no estômago distal e no cólon concomitantemente, tornaram possível diversas comparações. Devido a características do cólon, descritas anteriormente, que tornam o acoplamento eletromecânico complexo, elegeu-se o estômago para verificar a capacidade de BAC em registrar a atividade motora diretamente através do movimento da parede do TGI. A alta correlação temporal e em frequência obtida entre a BAC e a eletromiografia gástrica permitiu validar a técnica magnética para registro da atividade mecânica gastrintestinal (Fig. 50). Nota-se, no exemplo da Figura 51 a diferença no traçado dos sinais, onde o eletrodo implantado oferece, mesmo sem nenhuma filtragem, um registro mais limpo, e com a presença nítida de *spikes*, do que a EGG. Entretanto, ambos apresentam o mesmo perfil e principalmente a mesma frequência contrátil. A intensidade do pico de frequência registrado pela FFT do eletrodo implantado é 10 vezes maior do que a registrada pelo EGG (Fig. 52). A relação entre eletromiografia gástrica e a eletrogastrografia, também denominados EGG interno e externo, respectivamente, já foi muito controversa (MINTCHEV; KINGMA; BOWES, 1993; FAMILONI et al., 1991; AMARIS et al., 2002). O EGG tem alta correlação com a eletromiografia gástrica em frequência, entretanto a origem das variações em amplitude após uma refeição, ainda é discutível (ABELL & MALAGELADA, 1988; CHANG, 2005). Assim, é interessante comparar os dois tipos de registros à luz de outros experimentos para reforçar a aplicabilidade do EGG na pesquisa e na prática clínica (ABELL & MALAGELADA, 1988).

Alguns dos nossos resultados (Fig. 53) indicam que fenômenos elétricos gerados no estômago podem ser registrados no cólon e vice-versa, confirmando

dados de outros autores (AMARIS et al., 2002). Assim, frequências de contração em torno de 5 cpm, típicas do marca-passo gástrico no cão, foram registradas, tanto pelo eletrodo implantado no estômago distal, quanto pelo eletrodo implantado no cólon proximal. O mesmo ocorreu com a frequência colônica de 19 cpm registrada pelos dois eletrodos. É relevante frisar que, no caso da EMG, ambos os registros foram eletricamente isolados durante sua aquisição através de eletrodos de referência (terra), independentes para cada órgão, e posicionados inclusive em patas traseiras diferentes. Essa configuração descarta a possibilidade de que esse fenômeno deva-se a uma interferência durante a aquisição dos sinais. As frequências máximas observadas também descartam a hipótese de harmônicos ou sub-harmônicos um do outro, ou de outra frequência contráctil, como a cardíaca. A explicação mais plausível é a propagação dos sinais elétricos pelo tecido, que se constitui em meio não homogêneo e condutor, tornando-os mensuráveis em outras partes do corpo. Esse fenômeno ocorre com a frequência cardíaca, que pode ser registrada na superfície do corpo como se os detectores estivessem próximos ao coração (HOBBIE, 1997; HUIZINGA & DANIEL, 1986). Assim, a bradigastia, que vem sendo historicamente negligenciada e considerada um artefato ou um oscilador gástrico anormal, pode ser na verdade, uma contribuição colônica presente nos registros gástricos (AMARIS et al., 2002). Por outro lado, a faixa de atividade entre 4 e 6 cpm, considerada por muitos autores uma frequência proveniente do cólon (KEEF et al., 1992; SABOURIN, KINGMA, BOWES, 1990), pode ser, na verdade, uma contribuição do estômago. Os resultados apresentados demonstraram claramente essa interferência do estômago no cólon, sendo que, as alterações provocadas pelas drogas nessa faixa de frequência foram, inclusive, registradas pela EGG.

Uma alta correlação temporal, entre os registros provenientes de eletrodos implantados no cólon e no estômago, foi obtida tanto para a frequência tipicamente gástrica quanto para a atividade colônica de alta frequência. Observa-se a nítida interferência entre os dois registros elétricos (Fig. 55 e 56), onde é possível, inclusive, acompanhar a propagação da onda do seu órgão de sua origem até o órgão onde foi registrada, através do atraso em relação à fase do registro. Na interferência mecânica, quando um marcador magnético foi implantado no estômago e outro no colón, tanto o sensor posicionado no abdome sobre a área de projeção gástrica, quanto o sensor posicionado na projeção colônica registraram a atividade gástrica, ainda que com menor intensidade neste último (Fig. 54). Entretanto, o mesmo fenômeno ocorreu com a implantação apenas do marcador magnético no cólon, devido à propagação mecânica da atividade gástrica sobre o marcador colônico. Assim como esse marcador magnético está sujeito à contração da parede colônica, também sofre influência dos movimentos provenientes das contrações gástricas e da respiração.

Convém destacar, também, os exemplos das várias faixas de frequências esporádicas, que mostram períodos onde a intensidade do sinal é maior e períodos onde o sinal praticamente desaparece ou fica menos intenso. Esse “aparecimento” ou “desaparecimento” das frequências dessas faixas aparentemente independe de estímulos externos, como drogas administradas e estado prandial (Figs. 55 e 57). A intensidade do sinal, em certos momentos, é tão baixa que a atividade colônica pode ser confundida com ruídos (Figs. 57, 58 e 60) (REDDY; COLLINS; DANIEL, 1987). Muitas técnicas elétricas, como a EEG (eletroencefalografia) e a ECG (eletrocardiografia), estão completamente padronizadas com análise apropriada e completa interpretação dos sinais. Já a EGG e, especialmente a EMG colônico, ainda

estão longe de uma padronização adequada (CHRISTENSEN, 1987; VERHAGEN et al., 1999). A proposta de agrupar as frequências em faixas e quantificar essas faixas em frequência e amplitude foi consequência de processo cuidadoso de análise, que acarretou em resultados interessantes e objetivos. Além disso, os dados coletados podem ser abordados por outras formas de análise ainda não exploradas, ampliando a quantidade de informações obtidas a partir de um mesmo protocolo experimental.

A associação entre as técnicas, neste trabalho, mostrou que, de maneira geral, os registros obtidos pela BAC são similares aos da EGG e EMG gástricas, além de muito semelhantes aos da EMG colônica para atividade de baixa frequência. Nossos dados também mostraram que a implantação de um marcador magnético foi bem sucedida, sendo que, registros mecânicos e totalmente fisiológicos podem ser realizados por, no mínimo seis meses após a cirurgia (Fig. 63). Esse fato possibilita diversos tipos de abordagens experimentais, inclusive aquelas com características crônicas, para estudo de diversas características do TGI. Além disso, esse tipo de estudo, totalmente fisiológico, tem a vantagem de não requerer preparação colônica como, por exemplo, a manometria. A preparação colônica pode alterar a motilidade devido ao produto químico utilizado ou à ausência de material fecal no lúmen colônico (SARNA & LANG, 1989).

Esse modelo empregando a BAC e a EMG, para acompanhar, simultaneamente, o registro mecânico e elétrico do cólon ascendente de cães, tem caráter invasivo e exclusivamente experimental. Entretanto, com a ingestão de material magnético (AMÉRICO et al., 2007; CORÁ et al., 2005) e a colocação de eletrodos superficiais, tanto o sistema magnético quanto o elétrico podem ser utilizados para registros não invasivos e com baixo custo. Além disso, com o

aprimoramento dessa associação entre técnicas há potencial para sua utilização na investigação clínica no estudo de várias doenças envolvendo anormalidades motoras do estômago e do cólon.

Sintetizando, metodologias compatíveis com as características do TGI constituem-se em ferramentas imprescindíveis para a compreensão da função colônica (CAMILLERI & FORD, 1998). O modelo proposto, por separar em faixas as frequências de atividade, permitiu estudar algumas manifestações das atividades elétricas e mecânicas gastrintestinais. A implantação de eletrodos e marcadores magnéticos foi inédita e decisiva para validação da BAC como técnica habilitada para registro das contrações do TGI. Esse modelo permitiu caracterizar os efeitos colônicos de drogas tradicionais como a Prostigmina[®] e o Buscopan[®], de drogas com potencial pró-cinético como a eritromicina e de outros estímulos como as refeições em cães anestesiados ou não.

CONCLUSÕES

"Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim"

Chico Xavier

6. CONCLUSÕES

- A BAC, quando comparada à eletromiografia gástrica, foi capaz de medir diretamente da parede gastrintestinal os movimentos contrácteis do estômago.
- O método foi validado no estômago e no cólon pela eletromiografia, apresentando bons resultados para registrar os efeitos de drogas tradicionais e de outros estímulos sobre a motilidade gastrintestinal;
- A intensidade dos efeitos da eritromicina foi dependente da dose administrada, embora todas as doses tenham provocado um aumento, tanto na motilidade gástrica, quanto na colônica de cães anestesiados,
- Os resultados evidenciaram a presença de uma atividade elétrica de alta frequência e de uma atividade de baixa frequência elétrica e mecânica no cólon. Foi possível demonstrar, também a interferência da atividade gástrica sobre a colônica e vice-versa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

“Todo homem que encontro é superior
a mim em alguma coisa.
Por isso, dele sempre
aprendo alguma coisa”.

Emerson

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELL, T.L.; MALAGELADA, J.R. Electrogastrography: current assessment and future perspectives. **Dig. Dis. Sci.**, v. 33, p. 982-992, 1988.

ALLOCA, 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.

AMARIS, M.A.; SANMIGUEL, C.P.; SADOWSKI, D.C.; BOWES, K.L.; MINTCHEV, M.P. Electrical activity from colon overlaps with normal gastric electrical activity in cutaneous recordings. **Dig. Dis. Sci.**, v. 47, p. 2480-2485, 2002.

AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; ROMEIRO, F.G.; BAFFA, O.; CORÁ, L.A.; MIRANDA, J.R.A. Scintigraphic validation of AC Biosusceptometry to study the gastric motor activity and the intragastric distribution of food in humans. **Neurogastroenterol. Motil.**, v. 19, p. 804-811, 2007.

ATANASSOVA, E.; NOEVA, A.; GACHILOVA, S. Relationship between the spike activities of the small and large intestines. **J. Physiol. Paris**, v. 85, p. 20-26, 1991.

AZPIROZ, F.; MALAGELADA, J.R. Intestinal control of gastric tone. **Am. J. Physiol.**, v. 249, p. G501-G507, 1985.

BAFFA, O; OLIVEIRA, R.B.; MIRANDA, J.R.A.; TRONCON, L.E.A. Analysis and development of AC biosusceptometer for oro-caecal transit time measurements. **Med. Biol. Eng. Comput.**, v. 33, p. 353-357, 1995.

* De acordo com a Norma Técnica da ABNT NBR6023 – Informação e Documentação – Referências – Elaboração (ago./2000). Abreviatura de periódicos segundo a Norma Técnica da ABNT NBR 6032 – Abreviação de Títulos de Periódicos e Publicações Seriadas (ago./1989).

BASSOTTI, G.; CHIARIONI, G.; VANTINI, I.; MORELLI, A.; WHITEHEAD, W.E. Effect of different doses of erythromycin on colonic motility in patients with slow transit constipation. **Z. Gastroent.**, v. 36, p. 209-213, 1998.

BRADETTE, M.; POITRAS, P.; BOIVIN, M. Effect of motilin and erythromycin on the motor activity of the human colon. **J. Gastrointest. Motil.**, v. 5, p. 247-251, 1993.

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

CARPENTER, J.R. A method for presenting and comparing dose-response curves. **J. Pharmacol. Methods.**, v.15, p.283-303, 1986.

CHANG, F.Y.; LU, C.C.; CHEN, C.Y.; LUO, J.C.; LEE, S.D.; WU, H.C.; CHEN, J.Z. Fasting and postprandial small intestinal slow waves non-invasively measured in subjects with total gastrectomy. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 22, p. 247-252, 2007.

CHANG, F.Y. Electrogastrography: Basic knowledge, recording, processing and its clinical applications. **Gastroenterol. Hepatol.**, v. 20, p. 502–516, 2005.

CHEN, J.D.Z.; SCHIRMER, B.D.; McCALLUM, R.W. Measurement of electrical activity of human small intestine using surface electrodes. **IEEE Trans. Biomed. Eng.**, v. 40, p. 598-602, 1993.

CHIBA, T.; THOMFORDE, G.M.; KOST, L.J.; ALLEN, R.G.; PHILLIPS, S.F. Motilides accelerate regional gastrointestinal transit in the dog. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 14, p. 955-960, 2000.

CHIEPPA, M.D.; MANSI, G.; RINALDI, R.; SERIO, M.; NACCI, C.; MONTAGNANI, M.; POTENZA, M.A.; DE SALVIA, M.A.; MITOLO, C.I.; RINALDI, M.; ALTOMARE, D.F. Effects of erythromycin on human colonic circular muscle in idiopathic chronic constipation. **Eur. J. Clin. Invest.**, v. 30, p. 66–71, 2000.

CHRISTENSEN, J. Motility of the colon. In: **Physiology of the Gastrointestinal Tract**. 2nd ed. New York: Raven Press, 1987, cap. 21, p. 665-693.

COOK, I.J.; REDDY, S.N.; COLLINS, S.M.; DANIEL, E.E. Influence of recording techniques on measurement of canine colonic motility. **Dig. Dis. Sci.**, v. 33, p. 999-1006, 1988.

CORÁ, L.A.; AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O.; MORAES, R.; ROMEIRO, F.G.; MIRANDA, J.R.A. Desintegration of magnetic tablets in human stomach evaluated by Alternate Current Biosusceptometry. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v. 56, p. 413-420, 2003.

CORÁ, L.A.; ROMEIRO, F.G.; STELZER, M.; AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O.; MIRANDA, J.R.A. AC Biosusceptometry in the study of drug delivery. **Adv. Drug Deliv. Rev.** v. 57, p. 1223– 1241, 2005.

CORÁ, L.A.; ROMEIRO, F.G.; AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O.; STELZER, M.; MIRANDA, J.R.A. Gastrointestinal transit and disintegration of enteric coated magnetic tablets assessed by ac biosusceptometry. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 27, p. 1-8, 2006a.

CORÁ, L.A.; ROMEIRO, F.G.; PAIXÃO, F.C.; AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O.; MIRANDA, J.R.A. Enteric coated magnetic HPMC capsules evaluated in human gastrointestinal tract by AC Biosusceptometry. **Pharm. Res.**, v. 23, p. 1809-1816, 2006b.

COSTA, A.; DE PONTI, F.; GIBELLI, G.; CREMA, F.; D'ANGELO, L. In vivo characterization of the colonic prokinetic effect of erythromycin in the rabbit. **Pharmacology**, v. 54, p. 64-75, 1997.

COULIE, B.; TACK, J.; PEETERS, T.; JANSSENS, J. 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.; BRAGA, F.J.H.N; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O. Oesophageal transit time evaluated by biomagnetic method. **Physiol. Meas.**, v. 19, p. 413-420, 1998.

DASS, N.B.; HILL, J.; MUIR, A.; TESTA, T.; WISE, A.; SANGER, G.-J. The rabbit motilin receptor: molecular characterisation and pharmacology. **Br. J. Pharmacol.** v. 140, p. 948–954, 2003.

DELVAUX, M.; LOUVEL, D.; FIORAMONTI, J.; STAUMONT, G.; BUENO, L.; FREXINOS, J. Effect of various doses of erythromycin on colonic myoelectrical activity in IBS patients. **Neurogastroenterol. Motil.**, v. 6, p. 205-212, 1994.

DiBAISE, J.K.; PARK, F.L.; LYDEN, E.; BRAND, R.E.; BRAND, R.M. Effects of low doses of erythromycin on the ¹³C *Spirulina platensis* gastric emptying breath test and electrogastrogram: a controlled study in healthy volunteers. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 96, p. 2041-2050, 2001.

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

EL-SHARKAWY, T.Y. Electrical activities of the muscle layers of the canine colon. **J. Physiol.**, v. 342, p. 67-83, 1983.

FEIGHNER, S.D.; TAN, C.P.; McKEE, K.K.; PALYHA, O.C.; HRENIUK, D.L.; PONG, S.-S.; AUSTIN, C.P.; FIGUEROA, D.; MacNEIL, D.; CASCIERI, M.A.; NARGUND, R.; BAKSHI, R.; ABRAMOVITZ, M.; STOCCO, R.; KARGMAN, S.; O'NEILL, G.; Van Der PTOEG, L.H.T.; EVANS, J.; PATCHETT, A.A.; SMITH, R.G.; HOWARD, A.D. Receptor for motilin identified in the human gastrointestinal system. **Science**, v. 284, p. 2184 – 2188, 1999.

FILAMONI, B.O.; BOWES, K.L.; KINGMA, Y.J.; COTE, K.R. Can transcutaneous recordings detect gastric electrical abnormalities? **Gut**, v. 32, p. 141-146, 1991.

FIORAMONTI, J.; BUENO, L.; SARNA, S.K.; RUCKEBUSCH, Y. Origin of high slow-wave frequency in the dog colon. **Reprod. Nutr. Dévelop.**, v. 20, p. 983-990, 1980a.

FIORAMONTI, J.; GARCIA-VILLAR, R.; BUENO, L.; RUCKEBUSCH, Y. Colonic myoelectrical activity and propulsion in the dog. **Dig. Dis. Sci.**, v. 25, p. 641-646, 1980b.

FIORAMONTI, J.; BUENO, L. Diurnal changes in colonic motor profile in conscious dogs. **Dig. Dis. Sci.**, v. 28, p. 257-264, 1983.

FLOURIE, B.; PHILLIPS, S.; RICHTER, H.; AZPIROZ, F. Cyclic motility in canine colon: responses to feeding and perfusion. **Dig. Dis. Sci.**, v. 34, p. 1185-1192, 1989.

FREXINOS, F.; DELVAUX, M. Colonic Motility. In: KUMAR, D.; WINGATE, D. **An illustrated guide to gastrointestinal motility**. 2nd ed. London: Churchill Livingstone, 1993. Cap. 28, p. 427-448.

HASLER, W.L.; HELDSINGER, A.; OWYANG, C. Erythromycin contracts rabbit colon myocytes via occupation of motilin receptors. **Am. J. Physiol.- Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 262, p. G50-G55, 1992.

HOBBIE, R.K. **Intermediate physics for medicine and biology**. New York: Springer-Verlag, 1997. 575 p.

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

HORIGUCHI, K.; SEMPLE, G.S.A.; SANDERS, K.M.; WARD, S.M. Distribution of pacemaker function through the tunica muscularis of the canine gastric antrum. **J. Physiol.**, v. 537, p. 237-250, 2001.

HUIZINGA, J.D.; STERN, H.S.; CHOW, E.; DIAMANT, N.E.; EL-SHARKAWY, T.Y. Electrophysiologic control of motility in the human colon. **Gastroenterology**, v. 88, p. 500-511, 1985.

HUIZINGA, J.D.; DANIEL, E.E. Control of human colonic motor function. **Dig. Dis. Sci.**, v. 31, p. 865-877, 1986.

HUTCHINSON, R.; NOTGHI, A.; SMITH, N.B.; HARDING, L.K.; KUMAR, D. Scintigraphy measurement of ileocaecal transit in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation. **Gut**, v. 36, p. 585-589, 1995.

ITOH, Z.; NAKAYA, M.; SUZUKI, T.; ARAI, H.; WAKABAYASHI, K. Erythromycin mimics exogenous motilin in gastrointestinal contractile activity in the dog. **Am. J. Physiol.-Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 247, p. G688-694, 1984.

JAMESON, J.S.; ROGERS, J.; MISIEWICZ, J.J.; RAIMUNDO, A.H.; HENRY, M.M. Oral or intravenous erythromycin has no effect on human distal colonic motility. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 6, p. 589-595, 1992.

JANSSENS J.; PEETERS, T.L.; VANTRAPPEN, G.; TACK, J.; URBAIN, J.L.; De ROO, M.; MULS, E.; BOUILLON, R. Improvement of gastric emptying in diabetic gastroparesis by erythromycin. **N. Engl. J. Med.**, v. 322, p. 1028-31, 1990.

JARVIE, E.M.; NORTH LAIDER, V.J.; CORCORAN, S.; BASSIL, A.; SANGER, G.J. Differences between the abilities of tegaserod and motilin receptor agonists to stimulate gastric motility in vitro. **Br. J. Pharmacol.**, v. 150, p. 455-462, 2007.

KAIHO, T.; SHIMOYAMA, I.; NAKAJIMA, Y.; OCHIAI, T. Gastric and non-gastric signals in electrogastrography. **J. Auto. Nerv. Syst.**, v. 79, p. 60-66, 2000.

KEEF, K.D.; WARD, S.M.; STEVENS, R.J.; FREY, B.W.; SANDERS, K.M. Electrical and mechanical effects of acetylcholine and substance P in subregions of canine colon. **Am. J. Physiol.-Gastroint. Liver Physiol.**, v. 262, p. G298-307, 1992.

KEEF, K.D.; ANDERSON, U.; O'DRISCOLL, K.; WARD, S.M.; SANDERS, K.M. Electrical activity induced by nitric oxide in canine colonic circular muscle. **Am. J. Physiol.-Gastroint. Liver Physiol.**, v. 282, p. G123-129, 2002.

KOUTSOVITI-PAPADOPOULOU, M.; KOUNENIS, G.; ELEZOGLOU, V. Effect of erythromycin on different parts of the rabbit intestine: Comparison with motilin. **Gen. Pharmacol.**, v. 25, p. 93-96, 1994.

LANGTON, P.; WARD, S.M.; CARL, A.; NORELL, M.A.; SANDERS, K.M. Spontaneous electrical activity of interstitial cells of Cajal isolated from canine proximal colon. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 86, p. 7280-7284, 1989.

LIU, L.W.C.; FARRAWAY, L.; BEREZIN, I.; HUIZINGA, J.D. Interstitial cells of Cajal: mediators of communication between circular and longitudinal muscle layers of canine colon. **Cell Tissue Res.**, v. 294, p. 69-79, 1998.

LORD, M.G.; HUTTON, M.; WINGATE, D. Patterns of slow waves and spike activity in the conscious dog. In: CHRISTENSEN, J. **Gastrointestinal Motility**. New York: Raven Press, 1980. p. 411-413.

MATHIS, C.; MALBERT, C.H. Gastric but not duodenal motor effects of oral erythromycin are dose related. **Neurogastroenterol. Motil.**, v. 7, p. 47-54, 1995.

MIQUELIN, C. A.; BRAGA, F.J.H.N.; DANTAS, R.O.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O. Pharyngeal clearance and pharyngeal transit time determined by a biomagnetic method in normal humans. **Dysphagia**, v. 16, p. 308-312, 2001.

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

MIRANDA, J.R.A.; BAFFA, O.; OLIVEIRA, R.B.; MATSUDA, N.M. An AC biosusceptometer to study gastric emptying. **Med. Phys.**, v. 19, p. 445-448, 1992.

MIRANDA, J.R.A.; OLIVEIRA, R.B.; SOUSA, P.L.; BRAGA, F.J.H.; BAFFA, O. A novel biomagnetic method to study gastric antral contractions. **Phys. Med. Biol.**, v. 42, p. 1791-1799, 1997.

MORAES, R.; CORÁ, L.A.; AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O.; MIRANDA, J.R.A. Measurement of gastric contraction activity in dogs by means of AC Biosusceptometry. **Physiol. Meas.**, v. 24, p. 337-345, 2003.

NERI, M.; PHILLIPS, S.F.; FICH, A. Measurement of tone in canine colon. **Am. J. Physiol.-Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 260, p. G505-G511, 1991.

NISSAN, A.; FREUND, H.R.; HANANI, M. Direct inhibitory effect of erythromycin on human alimentary tract smooth muscle. **Am. J. Surg.**, v. 183, p. 413-418, 2002.

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

PARKMAN, H.P.; PAGANO, A.P.; VOZZELLI, M.A.; RYAN, J.P. Gastrokinetic effects of erythromycin: myogenic and neurogenic mechanisms of action in rabbit stomach. **Am. J. Physiol.**, v. 269, p. G418-26, 1995.

PARKMAN, H.P.; HASLER, W.L.; BARNETT, J.L.; EAKER, E.Y. Electrogastrography: 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.

PEZZOLLA, F.; RIEZZO, G.; MASELLI, M.A.; GIORGIO, I. Electrical activity recorded from abdominal surface after gastrectomy or colectomy in humans. **Gastroenterology**, v. 97, p. 313-320, 1989.

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

RAE, M.G.; FLEMING, N.; MCGREGOR, D.B.; SANDERS, K.M.; KEEF, K.D. Control of motility patterns in the human colonic circular muscle layer by pacemaker activity. **J. Physiol.**, v. 510, p. 309-320, 1998.

RAO, S.S.C.; SCHULZE-DELRIEU, K. The stomach, pylorus and duodenum. In: KUMAR, D.; WINGATE, D. **An illustrated guide to gastrointestinal motility**. 2nd ed. London: Churchill Livingstone, 1993. Cap. 25, p. 373-392.

REDDY, S.N.; COLLINS, S.M.; DANIEL, E.E. Frequency analysis of gut EMG. **Crit. Rev. Biomed. Eng.**, v.15, p. 95-116, 1987.

ROMEIRO, F.G.; CORÁ, L.A.; ANDREIS, U.; AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O.; MIRANDA, J.R.A. A novel biomagnetic approach to study caecocolonic motility in humans. **Neurogastroenterol. Motil.**, v. 18, p. 1078-1083, 2006.

SABOURIN, P.J.; KINGMA, Y.J.; BOWES, K.L. Electrical and mechanical interactions between the muscle layers of canine proximal colon. **Am. J. Physiol.-Gastroint. Liver Physiol.**, v. 258, p. G484-491, 1990.

SANDERS, K.M.; KOH, S.D.; WARD S.M. Interstitial cells of Cajal as pacemakers in the gastrointestinal tract. **Annu. Rev. Physiol.** v. 68, p. 307-343, 2006.

SARNA, S.K. The intact and intrinsic frequency gradients of canine colonic electrical and mechanical activities. **Gastroenterology**, v. 78, p. 1250, 1980.

SARNA, S.K. Myoelectric correlates of colonic motor complexes and contractile activity. **Am. J. Physiol.- Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 250, p. G213-G220, 1986.

SARNA, S.K.; LANG, I.M. Colonic motor response to a meal in dogs. **Am. J. Physiol.-Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 257, p. G830-G835, 1989.

SARNA, S.K. Physiology and pathophysiology of colonic motor activity (Part one of two). **Dig. Dis. Sci.**, v. 36, p. 827-862, 1991a.

SARNA, S.K. Physiology and pathophysiology of colonic motor activity (Part two of two). **Dig. Dis. Sci.**, v. 36, p. 998-1018, 1991b.

SARNA, S.K.; SOERGEL, K.H.; KOCH, T.R.; STONE, J.E.; WOOD, C.M.; RYAN, R.P.; ARNDORFER, R.C.; CAVANAUGH, J.H.; NELLANS, H.N.; LEE, M.B. Gastrointestinal motor effects of erythromycin in humans. **Gastroenterology**, v. 101, p. 1488-1496, 1991.

SHARMA, S.S., BHAGAVA, N., MATHUR, S.C. Effect of oral erythromycin on colonic transit in patients with idiopathic constipation. **Dig. Dis.Sci.**, v. 40, p. 2446-2449, 1995.

SCOTT, S.M.; PILOT, M.; BARNETT, T.G.; WILLIAMS, N.S. Prolonged ambulatory canine motility. **Am. J. Physiol.-Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 268, p. G650-662, 1995.

SETHI, A.K.; SARNA, S.K. Contractile mechanisms of canine colonic propulsion. **Am. J. Physiol.- Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 268, p. G530-G538, 1995.

SHARMA, S.S.; BHARGAVA, N.; MATHUR, S.C. Effect of oral erythromycin on colonic transit in patients with idiopathic constipation. A pilot study. **Dig. Dis. Sci.**, v. 40, p. 2446-2449, 1995.

SHEARIN, N. L.; BOWES, K. L.; KINGMA, Y. J. In vitro electrical activity in canine colon. **Gut**, v. 20, p. 780-786, 1978.

SIMRÉN, M.; VOS, R.; JANSSENS, J.; TACK, J. Unsuppressed postprandial phasic contractility in the proximal stomach in functional dyspepsia: relevance to symptoms. **Am. J. Gastroenterol.- Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 98, p. 2169-2175, 2003.

SMITH, T. K.; REED, J. B.; SANDERS, K. M. Interaction of two electrical pacemakers in muscularis of canine proximal colon. **Am. J. Physiol.- Cell Physiol.**, v. 252, p. C290-C299, 1987.

STODDARD, C.J.; DUTHIE, H.L.; SMALLWOOD, R.H.; LINKENS, D.A. Colonic myoelectrical activity in man: comparison of recording techniques and methods of analysis. **Gut**, v. 20, p. 476-483, 1979.

SUNSHINE, A.G.; PERRY, R.; REYNOLDS, J.C.; COHEN, S.; OUYANG, A. Colonic slow-wave analysis. Limitations of usefulness of fast Fourier transform (FFT). **Dig. Dis. Sci.**, v. 34, p. 1173-1179, 1989.

THIELEMANS, L.; DEPOORTERE, I.; PERRET, J.; ROBBERECHT, P.; LIU, Y.; THIJS, T.; CARRERAS, C.; BURGEON, E.; PEETERS, T.L. Desensitization of the human motilin receptor by motilides. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 313, p. 1397-1405, 2005.

VARANNES, S.B.; PARYS, V.; ROPERT, A.; CHAYVIALLE, J.A.; ROZE, C.; GALMICHE, J.P. Erythromycin enhances fasting and postprandial proximal gastric tone in humans. **Gastroenterology**, v. 109, p. 32-39, 1995.

VERHAGEN, M.A.M.T.; VAN SCHELVEN, L.J.; SAMSOM, M.; SMOUT, A.J.P.M. Pitfalls in the analysis of electrogastrographic recordings. **Gastroenterology**, v. 117, p. 453-460, 1999.

WANG, Z.; CHEN, J.D.Z. Blind separation of slow waves and spikes from gastrointestinal myoelectrical recordings. **IEEE T. Inf. Technol. Biomed.**, v. 5, p. 133-137, 2001.

WINGATE, D.; HONGO, M.; KELLOW, J.; LINDBERG, G.; SMOUT, A. Disorders of gastrointestinal motility: towards a new classification. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 17, p. S1-S14, 2002.

YELLIN, A.E.; NEWMAN, J.; DONOVAN, A.J. Neostigmine induced hyperperistalsis. Effects on security of colonic anastomoses. **Arch. Surg.**, v. 106, p. 779-784, 1973.

YOU, C.H.; CHEY, W.Y. Study of electromechanical activity of the stomach in humans and in dogs with particular attention to tachygastria. **Gastroenterology**, v. 86, p. 1460-1468, 1984.

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha Catalográfica

Américo, Madileine Francely

Desenvolvimento de método para o estudo da motilidade gastrointestinal no cão empregando a Biosusceptometria de corrente alternanda (BAC). Ribeirão Preto, 2008.

111 p.: il.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Fisiologia.

Orientador: Prof Dr. Ricardo Brandt de Oliveira

1. Eritromicina. 2. Prostigmina. 3. Cólon.

A NOVEL CANINE MODEL EMPLOYING ACB AND EMG TO STUDY COLONIC MOTILITY

Madileine F Américo ¹, Ricardo B Oliveira ², Luciana A Corá ³, Andreis U ³, José Ricardo A Miranda ³.

¹ Departamento de Fisiologia, FMRP, Universidade de São Paulo – USP, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.

² Departamento de Clínica Médica, FMRP, Universidade de São Paulo – USP, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.

³ Departamento de Física e Biofísica, IBB, São Paulo State University – UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil.

Corresponding Author: José Ricardo A Miranda. Departamento de Física e Biofísica, Instituto de Biociências – IBB, Laboratório de Biomagnetismo, Universidade Estadual Paulista – UNESP, CXP 510, CEP 18618-000, Botucatu, São Paulo, Brazil. Tel. +55-14-3811-6254; fax: +55-14-3811-6346. E-mail address: jmiranda@ibb.unesp.br

Abstract

The colonic motility is poorly understood when compared to superior GI (gastrointestinal) tract. Animal model employing radiation free and low cost methodologies can be used to evaluate the effects of several stimuli and drugs. The aim of this work was to validate the ACB (AC Biosusceptometry) through EMG (Electromyography) in a dog model to evaluate the GI motility. Pairs of electrode/magnetic marker have been implanted in colonic and gastric serosa in seven healthy dogs. Two protocols were carried out: a) control period, Prostigmine[®] and Buscopan[®]; b) fast and fed without anesthesia. Colonic activity of low and high frequency and gastric motor activity were quantified in frequency and in amplitude. High frequency was registered only by EMG, although ACB and EMG presented good correlation for low frequency. Prostigmine[®] and Buscopan[®] protocol showed that ACB was able to record increases and decreases in colonic motility, respectively. Colonic response to meal was recorded in awaked dogs. There was interference in the electrical and mechanical recordings of the stomach on the colon and vice versa, presenting high temporal correlation. The association between EMG and ACB allowed characterizing the effects of traditional drugs and meal. ACB is a technique able to register motor activity, contributing to understand the gastrointestinal motility, even colonic.

Key words: scopolamine, neostigmine, electromyography.

Introduction

Electromechanical activity of the stomach and small bowel has been extensively studied (Chang *et al* 2007, Kim and Malagelada 1988, You and Chey 1984). In contrast, colonic motility it is still little understood mainly due to complexity of muscular arrangement and inaccessibility of the proximal segment by current techniques (Huizinga *et al* 1985). Thereby, technical difficulties involved in simultaneous monitoring of mechanical and electrical function are emphasized in colon.

Many different devices are used to evaluate the colonic motor activity and the comparison between results it is complicate (Cook *et al* 1988, Huizinga and Daniel 1986). Traditional manometric methods as balloons and water perfusion catheters are invasive and could interfere in physiological events (Azpiroz and Malagelada 1985, Huizinga and Daniel 1986). Dogs with pressure transducers "strain-gauges" implanted chronically are the choice method for studies of colonic motility because can register the activity of the whole organ without previous preparation (Sarna and Lang 1989). However, the disadvantages include the need for surgery and a possible insensibility to small contractions (Huizinga and Daniel 1986).

Electrogastrography (EGG) is a measurement of surface potential and had already provided subsidies about gastric electrical activity (Parkman *et al* 2003; Qian *et al* 2003). Nevertheless, recordings of surface potential from colon it is impracticable due to low intensity and complexity of the signals (Chen *et al* 1993). In the attempt to minimize those problems, electrodes can be implanted chronically in the serosa of the colon. Electromyography (EMG) is a well-established method to monitor GI (gastrointestinal) electrical activity in various species because serosal recordings should be least susceptible to interference and artifacts (Sunshine *et al* 1989).

Canine GI tract is considered a very useful model and the association of electrodes with strain gauge at the same location has been used in several motility studies (Rae *et al* 1998, You and Chey 1984). Despite morphological differences, these studies suggest expressive colonic similarities in electromechanical activity between man and dog (El-Sharkawy 1983, Rae *et al* 1998, Scott *et al* 1995, Smith *et al* 1987). Colonic motility recordings are variable and there is a disagreement about the frequency in both species, due to a lack of a gold standard method and some

characteristics of the registration technique (Cook *et al* 1988, Rae *et al* 1998). Thus, no ideal method has been established and is indispensable the development of new approaches to the clinical practice and research (Fioramonti and Bueno 1983, Sarna *et al* 1984, Sarna 1986, Huizinga and Daniel 1986).

Alternating Current Biosusceptometry (ACB) is a harmless and non-expensive method that has been validated with standard techniques to study several GI functions in humans (Corá *et al* 2006, Romeiro *et al* 2006, Corá *et al* 2005, Oliveira *et al* 1996) and in dogs (Moraes *et al* 2003). Additionally, the colonic activity contraction of rabbits recorded simultaneously by ACB and manometry showed good agreement (Romeiro *et al* 2006). In previous studies a magnetic material was ingested, but with the implantation of magnetic marker in the serosa is possible to record mechanical activity directly through movements of the GI tract wall.

The monitoring of motility is useful in evaluating the effect of drugs and other stimulants such as meals (Sarna 1980). The immediate colonic response to meal investigated in dogs seems to promote an increase in the contractility, but this phenomenon is still contradictory and continues to attract attention (Fioramonti and Bueno 1983, Flourie *et al* 1989, Sarna and Lang 1989, Sethi and Sarna 1995). Also could be interesting to apply a more objective quantification of effects of drugs with well-know mechanism of action as prostigmine (neostigmine methylsulfate) and buscopan (hyoscine-n-butylbromide) administered to an animal model (Law *et al* 2001, Bova *et al* 1993, Misiewicz *et al* 1966).

ACB and EMG recordings can acquire data on colonic mechanical and electrical events simultaneously. Thus, associated techniques could provide a novel and powerful tool for the study of GI motility. Also it can consolidate ACB as a method for detection of the colonic motor activity and lead to a physiological model in intact dogs for researches in the gastroenterology area. The aims of the present study were to validate ACB through EMG in a novel canine model to investigate the colonic motility in anesthetized and in awake dogs before and after stimuli.

Methods

ACB

ACB provides non-invasive and real-time data acquisition for GI motility studies. The multi-sensor ACB system is an assembly of one pair of excitation coils ($\phi = 11\text{cm}$) and seven pairs of detection coils ($\phi = 3.5\text{ cm}$) separated by a fixed baseline and coaxially arranged in a first order gradiometric configuration. The system works as a double magnetic flux transformer with air nucleus, one side (excitation/detection coils) to record magnetic signals and other acting as reference. The presence of a magnetic material causes an unbalancing in the magnetic flux and the signal can be monitored. Magnetic signal depends on the distance between sensor positioned on the canine abdominal surface and magnetic marker implanted in serosa. Thus, the movements of the gastrointestinal wall generated by muscle contraction and relaxation promote modulations in the signal recorded by the sensors. A more detailed description of ACB device has been published (Corá *et al* 2005).

Animal Preparation

Five female beagle dogs weighting $10 \pm 2\text{ kg}$ were used in the study. Animals were subjected to laparotomy in midline incision under pentobarbital sodium (30 mg/kg, Abbott Laboratories, Chicago, USA) anesthesia. An electrode/ferrite pair consists of one monopolar electrode with an external reference placed in right hind leg and a magnetic marker (fragment of 0.8 g of ferrite, MnFe_2O_4) implanted in colonic serosa. One pair was placed approximately 3 cm and the other 8 cm from the ileocolonic junction. A purse-string suture was tied to fix the magnetic marker in the serosa. After that, an electrode was attached in the same point where magnetic marker was inserted (Fig. 01). Colonic electrodes were the same designed for implantation into the myocardium during open-heart operations (Ethicon[®], Johnson & Johnson, Brussels, Belgium). The electrodes were exteriorized by needle puncture through abdomen and fixed in the canine vest. At the completion of the study, electrodes were removed by direct traction and no complications were related to electrode placement or removal. The animals were followed for at least 6 months after surgery by periodic magnetic mapping and the magnetic marker remained implanted without interfering with dog's quality of life.

<Figure 1>

Experimental Procedure

The dogs were allowed to recover for 10 days after surgery, during which they have been trained to stand quietly in dorsal decubitus. Colonic motility has been studied after two stimuli applied to each dog on different days and in randomized order: 1) drugs with traditional effect on GI motility and 2) standardized meal. Both studies protocol were approved by the local Animal Ethics Committee and dogs were fasted overnight before each experiment.

In animals anesthetized with pentobarbital sodium (30mg/kg) were studied drugs that have recognized effects on the GI motility. It was utilized neostigmine from the commercial solution of neostigmine methylsulfate (Prostigmine[®], 0.5 mg/ml; Roche, Madrid, Spain) and hyoscine n-butylbromide (Buscopan[®], 20 mg/ml; Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Germany). The control motility was recorded for a period of 15 minutes. An i.v. injection of 1 ml of prostigmine was given then and, after an interval of 12 minutes an injection of 1 ml of buscopan was administered.

In unanesthetized dogs were studied fasting and postprandial patterns of colonic motility. The fasting motility was recorded for 30 minutes and at the end of this period the dogs ate the test meal with energy content of 350 Kcal. The test meal consisted of a commercial dog food (100g of chopped beef; Pedigree[®] - Mars Inc., Vernon, USA) and was ingested into 5 minutes. Postcibal activity was measured in the half-hour immediately following the meal.

Recordings

To accurately evaluate colonic motility four types of recordings were acquired simultaneously: colonic mechanical activity by ACB, colonic electrical activity by EMG, respiration and EGG. Respiratory frequency and EGG were recorded to allow differentiation of peaks in the colonic signal that could be a respiratory artifact or a gastric contraction. One needle electrode was inserted through the skin in the abdominal gastric projection to record monopolar EGG with respect to the reference electrode attached to the left hind leg.

Electrical signals (EMG and EGG) were amplified by a Biopac EGG100C amplifier (set to 1000 gain, low pass filter at 1 Hz, high pass filter at 0.005 Hz) and

ACB system employed lock-in amplifiers (Stanford Research System, Sunnyvale, USA). Abdominal surface was scanned with a magnetic sensor in order to locate the colon for positioning ACB system. Magnetic, electric and respiratory signals were acquired at the sampling rate of 20 Hz/channel, digitized using a multi-channel recorder (MP100 System; Biopac Inc., Santa Barbara, USA) and stored in ASCII.

Data analysis

All raw signals were analyzed in MatLab (Mathworks, Inc., Natick, USA) through visual inspection and using bi-directional Butterworth band-pass filters by Fast Fourier Transform (FFT) and by Running Spectrum Analysis (RSA). Different frequency ranges were observed in colonic recordings such as 0.02-0.035 Hz (1.2-2.1 cpm), 0.04-0.05 Hz (2.4-3 cpm), 0.07-0.1 Hz (4.2-6 cpm), 0.12-0.135 Hz (7.2-8.1 cpm), 0.14-0.16 Hz (8.4-9.6 cpm), 0.18-0.2 Hz (10.8-12 cpm), 0.22-0.25 Hz (13.2-15 cpm) and 0.26-0.32 Hz (15.6-19.2 cpm). For the purpose of analysis, the colonic frequency range that appeared in less than 90% of the experiments it was not quantified. Two frequency ranges present in 90% or more of the experiments were quantified for control period and after stimuli period. A lower frequency range of 0.02-0.035 Hz (1.2-2.1 cpm) and a higher frequency range of 0.26-0.32 Hz (15.6-19.2 cpm) were quantified in amplitude and frequency for each period. Band-pass filter was projected between 0.01-0.035 Hz (1.2-2.1 cpm) for low frequency and 0.24-0.32 Hz (14.1-19.2 cpm) for high frequency. The selection of a band-pass filter with these cutoff frequency results in the removal of spikes from the tracing.

Area under contraction (AUC) was calculated for all evaluated periods employing the same filter projects described above. A comparison of all evaluated periods was performed for both techniques. To compare the power of both stimuli the results were expressed as a difference (in percentage) from the basal value.

Nonparametric Spearman rank correlation test was used to determine correlation at frequency between ACB and EMG. The statistical significance of differences between ACB and EMG before and after stimuli was determined with the paired Student's t-test. Differences were considered statistically significant at $P \leq 0.05$. The data are presented as mean \pm SE (standard error).

Results

A 35-minutes length of a colonic motility record from a dog is shown in figure 02. All dogs exhibited an intense colonic activity after the administration of prostigmine while buscopan reducing signals amplitude for ACB and EMG. Both techniques were able to acquire the range of 0.02-0.035 Hz (1.2-2.1 cpm) whereas only EMG achieved a frequency range of 0.26-0.32 Hz (15.6-19.2 cpm). Multiple frequency peaks were present in the lower and the higher frequency ranges. The mean of dominant frequency component in the control period in the lower frequency range was 1.26 ± 0.12 cpm for ACB and 1.38 ± 0.12 for EMG, and in the higher frequency range it was 16.8 ± 1.14 cpm for EMG (Table 1). The mean frequency determined for prostigmine and buscopan periods is shown in table 1. AUC also was calculated for lower and higher frequency range (Fig. 3). The correlation at lower frequency between ACB and EMG was 0.82 in control, 0.84 in prostigmine and 0.98 in buscopan period.

<Table 1>

<Figure 2>

<Figure 3>

The colonic response to the ingestion of a meal was an immediate increase of motor activity. An example of the colonic recording obtained from the same dog in fasting and after meal test is shown in figure 4. The most relevant frequency findings between the fasting and the postprandial states are displayed in table 2. AUC was measured during both the fasting and the fed (Fig. 5). The correlation at lower frequency range between ACB and EMG was 0.95 for fasting and 0.70 for postprandial period.

<Table 2>

<Figure 4>

<Figure 5>

The magnitude of the response in low frequency range to prostigmine was greater than those induced by meal for ACB (582 ± 204.4 % vs. 93.0 ± 49.8 %; $P < 0.04$) and for EMG (238.8 ± 38.6 % vs. 52.8 ± 16.0 %; $P < 0.002$).

Another interesting finding was the overlapping between electrical activity from the stomach and colon (Fig. 6). It was identified a gastric frequency of 0.08 Hz or 4.8 cpm and a colonic frequency of 0.32 Hz or 19.2 cpm in both EGG and EMG recordings.

<Figure 6>

Discussion

Our study indicates that the assessment of canine colonic motility by ACB yields results significantly similar to those obtained by EMG at lower frequency range. ACB and EMG were able to record the frequency in the range of 0.02-0.035 Hz (1.2-2.1 cpm), but only EMG technique achieved the range of 0.26-0.32 Hz (15.6-19.2 cpm). The results suggest a colonic electromechanical coupling at lower frequency range. Direct comparison of lower frequency range assessed by ACB and EMG showed a correlation with an *r* value of 0.82 for anesthetized and 0.95 for awaked dogs, which indicates a clear relationship. In contrast, the absence of higher frequency range in ACB recordings indicates that this electrical activity could be related to long-duration contractions (Sarna 1986, Huizinga and Daniel 1986).

Previous recordings using electrodes and strain gauges implanted in colon revealed consistent differences between electrical and mechanical activity (Sarna 1986, Huizinga 1986). In the colon have been identified at least two types of electrical activities: ECA (electrical response activity) and CEC (contractile electrical complex) (Sarna 1991). ECA has presented frequency of 2-13 cpm in human and 4-6 cpm in dog, while CEC has frequency of 13-40 cpm in man, pigs, cats and dogs (Sarna 1986, El-Sharkawy 1983). There are two types of mechanical activities either: short-duration contractions associated to ECA and long-duration contractions with CEC. Sarna (1991) has proposed that the frequency of short-durations contractions in the man and in the dog it varies of 2-13 cpm and 4-6 cpm, respectively. The frequency of the long-duration contractions in both species varies among 0.5-2 cpm. It is considered that contractions are associated with ECA on 1:1 basis with frequencies below 12 cpm. Frequencies higher than 12 cpm were presuming CEC activity and seem to be related with only one contraction (Sarna 1991, Huizinga and Daniel 1986).

However, the frequency of colonic contractions cited above is still controversial and a careful data analysis was required. An objective method of analysis was adopted to separate the results into frequency ranges. In this context, the peaks of respiration and EGG frequency, as determined from RSA of the signal, were rejected.

Our data showed an interesting overlapping between electrical activity from stomach and colon. In the EGG the gastric frequency intensity was higher than the colonic frequency intensity whereas in the EMG the gastric frequency intensity was smaller than the colonic intensity. It was observed in humans a contribution of electrical activity arising from the colon and affecting EGG recordings (Amaris *et al* 2002). Electrical activities were propagated because body is an electrically conductive tissue.

To clarify some of the controversy about colonic motility it is useful to investigate the effects of drugs with well-known mechanism of action on GI activity. By increasing the availability of an acetylcholine, prostigmine (neostigmine methylsulfate) and other acetylcholinesterase inhibitors strongly stimulate GI motor activity. Intravenous muscle relaxants such hyoscine n-butylbromide (Buscopan) causes a generalized reduction in peristalsis throughout the GI tract (Stacher, 1984; Moraes *et al* 2003). It is possible to note in lower frequency range that the stimulant effect of prostigmine on colonic motility is associated with a reduction in contraction frequency. In addition, buscopan reduced colonic motility and normalized the contraction frequency. These are not surprising but the quantification approach in frequency ranges provides new insights about their effects on colonic motility. At higher frequency ranges the effects of both drugs on colonic motility were little different from the control period, but not from each other.

Comparing the fasting state with the first half postprandial hour, in both techniques, food increased significantly the colonic motility. It is important to emphasize that food has increased colonic motility as well frequency of contractions in both frequency ranges analyzed. Sarna and Lang (1989) reported an increase in canine colonic motor activity for at least 8 h after a meal. Thus, this response probably has lasted longer, but our experiment ended at this time for evaluating only immediate response (Scott *et al* 1995, Flourie *et al* 1989, Fioramonti and Bueno 1983).

These experiments also compared the effects of a cholinesterase inhibitor (prostigmine) with a physiological stimulus such as meal on colonic motor function in healthy dogs. The effect of food on the proximal colon in the anesthetized dog was a modest rise in activity compared to the prostigmine (Misiewicz *et al* 1966). Prostigmine has more prominent colonic motor effect even when considering the effects of general anesthesia on canine motility.

The canine model is necessary since electrodes when implanted in humans can be used only in short period of time (Sunshine *et al* 1989). Also *in vitro* reports have not provided an explanation of all the patterns of activity observed *in vivo* (Huizinga 1986). Often, the synchronous recording of electrical and mechanical activity presents serious technical difficulties.

The canine model described here should be useful for further pharmacological studies of electromechanical colonic activity and may enhance our understanding about GI motility. Additionally, there were confirmed that parameters related primarily to skills of ACB in recording wall movement of GI tract. ACB has a number of advantages over existing technologies such as low cost and harmless characteristics. On the basis of this study, further characterization of colonic motility through ingestion of magnetic material instead of its implantation would be possible by using ACB method. In conclusion, our results are similar to those previously described and support an innovative and promising method of recording mechanical and electrical activity of the colon in anesthetized and awake dogs.

Acknowledgments

The authors thank Dr Rozemeire Garcia Marques for excellent surgical assistance. This study was partially supported by the Brazilian agencies CNPq, Fapesp and CAPES.

References

- Amaris M A, Sanmiguel C P, Sadowski D C, Bowes K L and Mintchev M P 2002 Electrical activity from colon overlaps with normal gastric electrical activity in cutaneous recordings *Dig. Dis. Sci.* **47** 2480-5
- Azpiroz F and Malagelada J R 1985 Intestinal control of gastric tone *Am. J. Physiol.* **249** 501-7

- Bova J G, Jurdi R A and Bennett W F 1993 Antispasmodic drugs to reduce discomfort and colonic spasm during barium enemas: comparison of oral hyoscyamine, IV glucagon, and no drug *Am. J. Roentgenol.* **161** 965–8
- Chang F-Y, Lu C-L, Chen C-Y, Luo J-C, Lee S-D, Wu H-C and Chen J Z 2007 Fasting and postprandial small intestinal slow waves non-invasively measured in subjects with total gastrectomy *J. Gastroenterol. Hepatol.* **22** 247-52
- Chen J D Z, Schirmer B D and McCallum RW 1993 Measurement of electrical activity of human small intestine using surface electrodes *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **40** 598-602
- Chang F-Y 2005 Electrogastrography: Basic knowledge, recording, processing and its clinical applications *J. Gastroenterol. Hepatol.* **20** 502-16
- Cook I J, Reddy S N, Collins S M and Daniel E E 1988 Influence of recording techniques on measurement of canine colonic motility *Dig. Dis. Sci.* **33** 999-1006
- Corá L A, Romeiro F G, Stelzer M, Américo M F, Oliveira R B, Baffa O and Miranda J R A 2005 Biosusceptometry in the study of drug delivery *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **57** 1223-41
- Corá L A, Romeiro F G, Paixão F C, Américo M F, Oliveira R B, Baffa O and Miranda J R A 2006 Enteric coated magnetic HPMC capsules evaluated in human gastrointestinal tract by AC Biosusceptometry *Pharm. Res.* **23** 1809-16
- El-Sharkawy T Y 1983 Electrical activities of the muscle layers of the canine colon *J. Physiol.* **342** 67-83
- Fioramonti J and Bueno L 1983 Diurnal changes in colonic motor profile in conscious dogs *Dig. Dis. Sci.* **28** 257-64
- Flourie B, Phillips S, Richter H and Azpiroz F 1989 Cyclic motility in canine colon: responses to feeding and perfusion *Dig. Dis. Sci.* **34** 1185-92
- Huizinga J D, Stern H S, Chow E, Diamant N E and El-Sharkawy T Y 1985 Electrophysiologic control of motility in the human colon *Gastroenterology* **88** 500-11
- Huizinga J D and Daniel E E 1986 Control of human colonic motor function *Dig. Dis. Sci.* **31** 865-77
- Kim C H and Malagelada J R 1986 Electrical activity of the stomach: clinical implications *Mayo Clin. Proc.* **61** 205-10

- Law N M, Bharucha A E, Undale A S and Zinsmeister A R 2001 Cholinergic stimulation enhances colonic motor activity, transit, and sensation in humans *Am. J. Physiol.* **281** 1228-37
- Misiewicz J J, Connell A M and Pontes F A 1966 Comparison of the effect of meals and prostigmine on the proximal and distal colon in patients with and without diarrhea *Gut* **7** 468-73
- Qian L W, Pasricha P J and Chen J D Z 2003 Origins and patterns of spontaneous and drug-induced canine gastric myoelectrical dysrhythmia *Dig. Dis. Sci.* **48** 508-15
- Oliveira R B, Baffa O, Troncon L E A, Miranda J R A and Cambrea C R 1996 Evaluation of a biomagnetic technique for measurement of oro-caecal transit time *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **8** 491-5
- Moraes R, Corá L A, Américo M F, Oliveira R B, Baffa O and Miranda J R A 2003 Measurement of gastric contraction activity in dogs by means of AC Biosusceptometry *Physiol. Meas.* **24** 337-45
- Rae M G, Fleming N, McGregor D B, Sanders K M and Keef K D 1998 Control of motility patterns in the human colonic circular muscle layer by pacemaker activity *J. Physiol.* **510** 309-20
- Romeiro F G, Corá L A, Andreis U, Américo M F, Oliveira R B, Baffa O and Miranda J R A 2006 A novel biomagnetic approach to study caecocolonic motility in humans *Neurogastroenterol. Motil.* **18** 1078-83
- Sarna S K, Bardakjian B L, Waterfall W E and Lind J F 1980 Human colonic electrical control activity (ECA) *Gastroenterology* **78** 1526-36
- Sarna S K, Condon R and Cowles V 1984 Colonic migrating and nonmigrating motor complexes in dogs *Am. J. Physiol.* **246** 355-60
- Sarna S K 1986 Myoelectric correlates of colonic motor complexes and contractile activity *Am. J. Physiol.* **250** 213-20
- Sarna S K and Lang I M 1989 Colonic motor response to a meal in dogs *Am. J. Physiol.* **257** 830-5
- Smith T K, Reed J B and Sanders K M 1987 Interaction of two electrical pacemakers in muscularis of canine proximal colon *Am. J. Physiol.* **252** 290-9
- Scott S M, Pilot M N, Barnett T G and Williams N S 1995 Prolonged ambulatory canine motility *Am. J. Physiol.* **268** 650-62

Sethi A K and Sarna S K 1995 Contractile mechanisms of canine colonic propulsion *Am. J. Physiol.* **268** 530-8

Sunshine A G, Perry R, Reynolds J C, Cohen S and Ouyang A 1989 Colonic slow-wave analysis. Limitations of usefulness of fast Fourier transform (FFT) *Dig. Dis. Sci.* **34** 1173-9

You C H and Chey W Y 1984 Study of electromechanical activity of the stomach in humans and in dogs with particular attention to tachygastria *Gastroenterology* **86** 1460-8

Table 1: The mean of dominant frequency component in the lower and higher frequency ranges in the control period and after the administration of prostigmine and buscopan.

	ACB			EMG		
	Control	Prostigmine	Buscopan	Control	Prostigmine	Buscopan
Low	0.021±0.002	0.016±0.003*	0.022±0.009	0.023±0.002	0.018±0.002**	0.020±0.009Hz
Frequency	1.26±0.12	0.96±0.18*	1.32±0.54	1.38±0.12	1.08±0.12**	1.20±0.54 cpm
High	----	----	----	0.280±0.019	0.250±0.024 §	0.235±0.020 Hz §§†
Frequency	----	----	----	16.8±1.14	15.00±1.44 §	14.10±1.20 cpm §§†

Values are mean ± SD in Hz (Hertz) and cpm (cycles per minute).

* p<0.02 between control and prostigmine

** p<0.03 between control and prostigmine

§ p<0.04 between control and prostigmine

§§ p<0.03 between prostigmine and buscopan

† p<0.02 between control and buscopan

Table 2: The mean of dominant frequency component in the lower and higher frequency ranges in fasting and postprandial period.

	ACB		EMG	
	Fasting	Postprandial	Fasting	Postprandial
Low Frequency	0.018 ± 0.003 Hz	0.020 ± 0.003 Hz*	0.017 ± 0.002 Hz	0.021 ± 0.003 Hz**
	1.08 ± 0.18 cpm	1.20 ± 0.18 cpm*	1.02 ± 0.12 cpm	1.26 ± 0.18 cpm**
High Frequency	----	----	0.310 ± 0.014 Hz	0.315 ± 0.013 Hz
	----	----	18.60 ± 0.84 cpm	18.90 ± 0.78 cpm

Values are mean ± SD in Hz (Hertz) and cpm (cycles per minute).

* p<0.04 between fasting and postprandial period

** p<0.02 between fasting and postprandial period

Legends

Figure 1: Diagram showing the dog in dorsal decubitus position. It is observed in colon two pairs (magnetic marker and monopolar electrode) placed in the serosa at 3 cm and 8 cm from the ileocolonic junction (IJ). Solid lines represent lead wires from electrodes that brought out through the abdominal wall. Open circles (dashed line) shows the ACB system with seven sensors positioned on abdominal surface.

Figure 2: An example of the ACB and EMG signal shows the effects of prostigmine and buscopan administration (indicate by arrows) on colonic motility. Note that prostigmine increased and buscopan decreased amplitude motility, respectively.

Figure 3: Area under contractions in control (open bars), prostigmine (gray bars) and buscopan period (hatched bars). Area under contraction was calculated for low frequency detected by ACB (**A**), low frequency registered by EMG (**B**), and high frequency detected only by EMG (**C**).

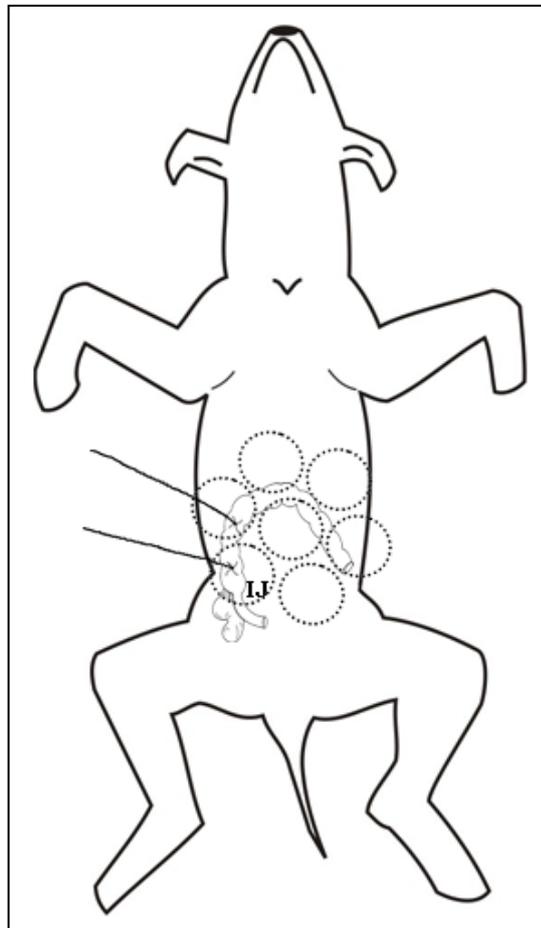
* p<0.003; ** p<0.002; *** p< 0.004.

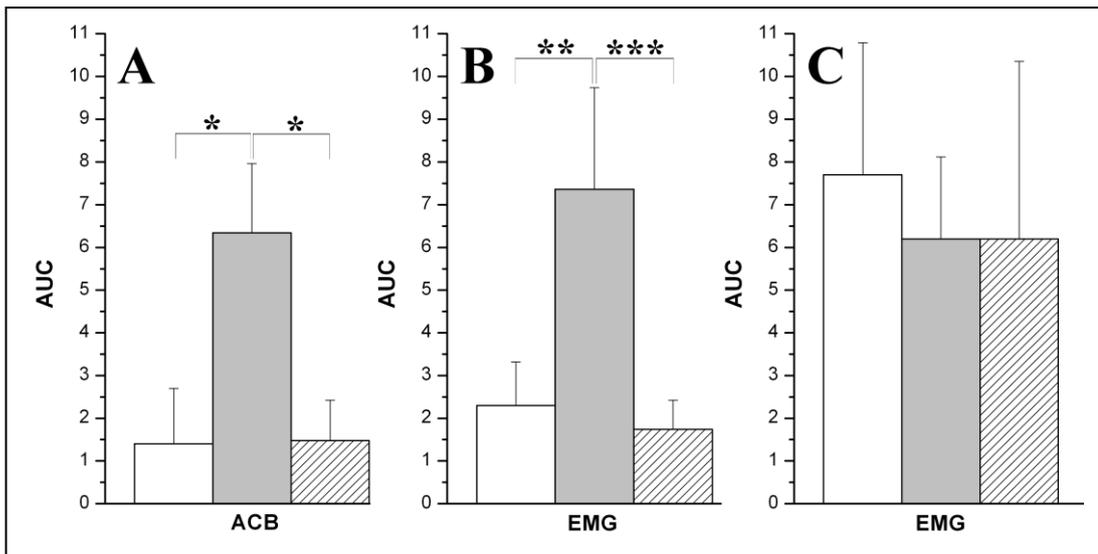
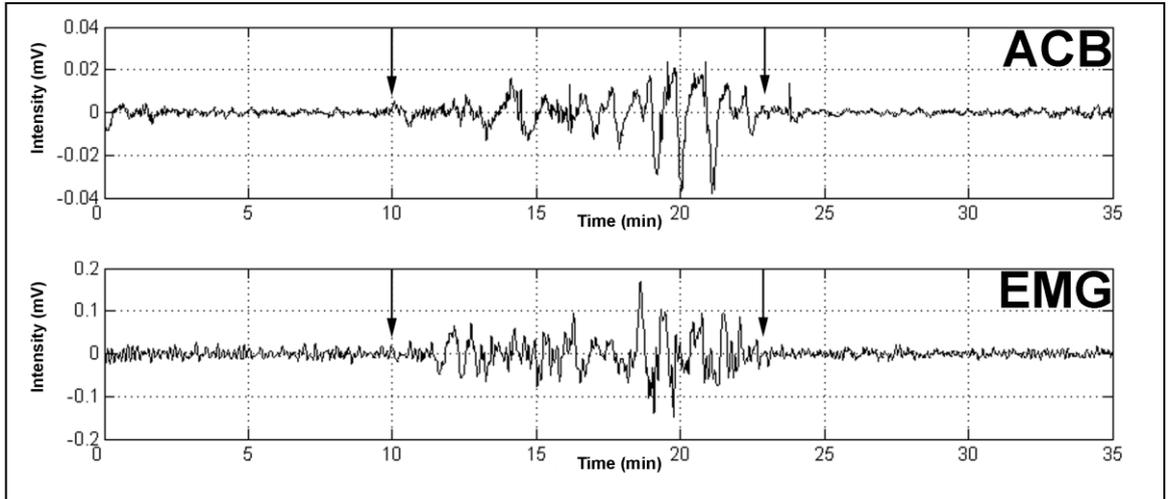
Figure 4: An example of colonic motility in fasting (F) and after meal (P) for ACB and EMG. It is possible to observe a different pattern of motility in the same intensity scale.

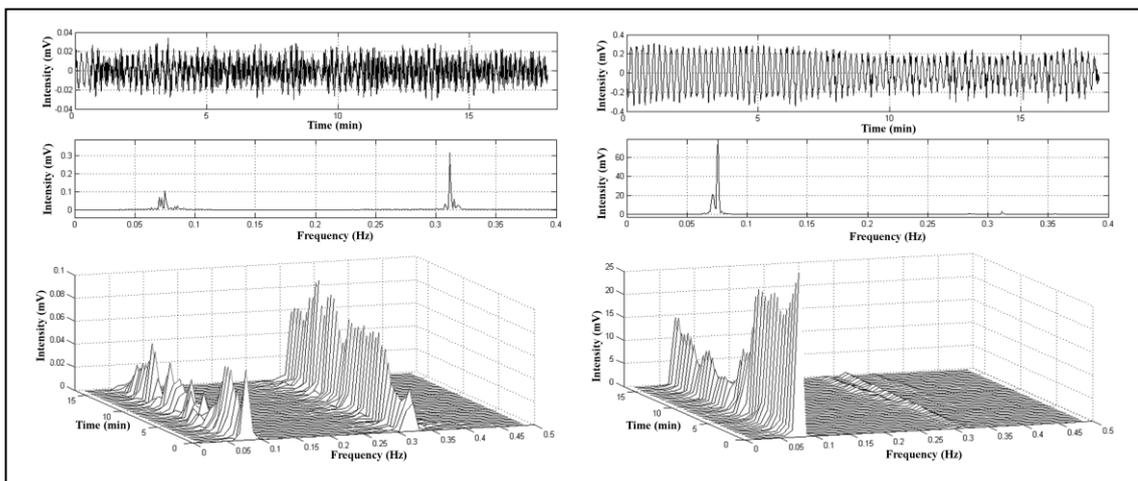
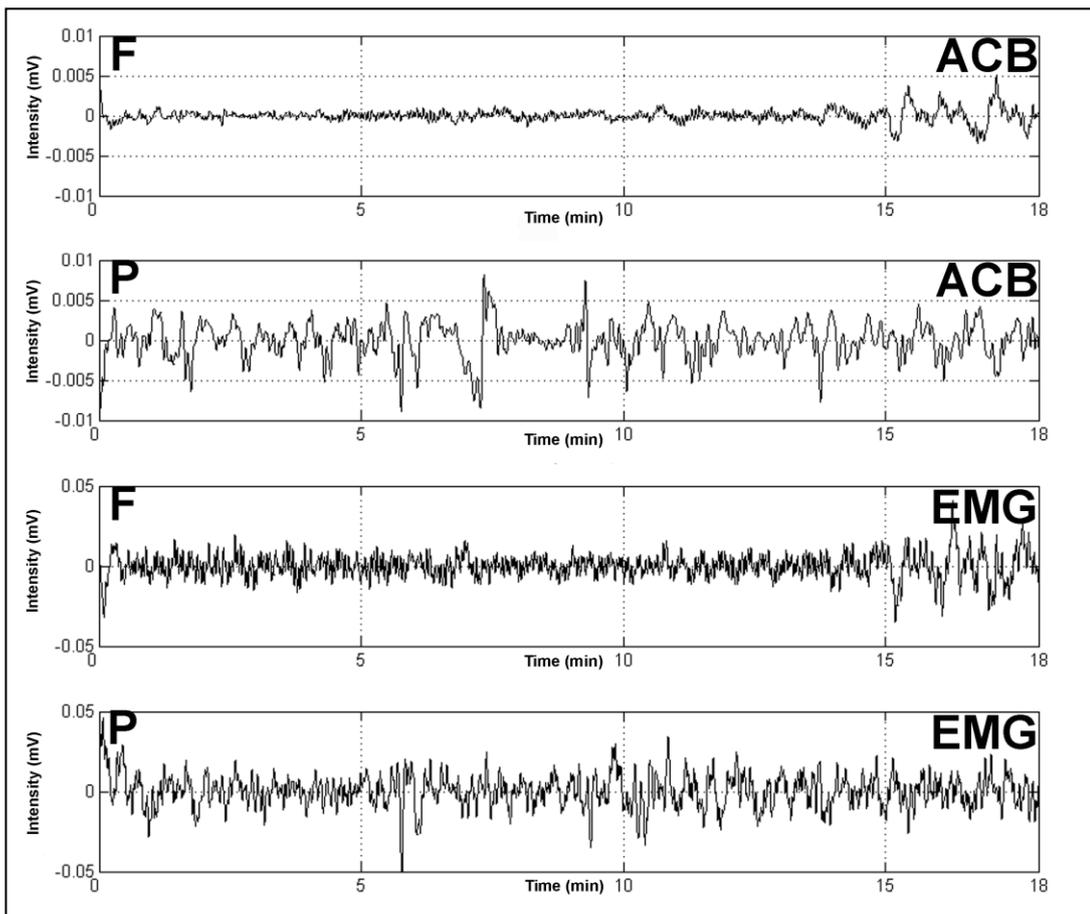
Figure 5: Area under contractions in fasting (crosshatched bars) and postprandial period (solid bars). AUC was calculated for lower frequency range detected by ACB (A), lower frequency range registered by EMG (B), and higher frequency range detected only by EMG (C).

* $p < 0.02$; ** $p < 0.08$.

Figure 6: An example of electrical activity interference obtained from colon and stomach simultaneously. The left panel shows signal, FFT and RSA of electrode implanted in colon (EMG). The right panel shows signal, FFT and RSA of a needle electrode inserted in abdominal gastric projection (EGG).







Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)