

ARTIGO ORIGINAL

TRÂNSITO GASTROINTESTINAL DE *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769) (Rodentia:Muridae) APÓS ADMINISTRAÇÃO DE TEGASERODE



João Vicente Linhares Rodrigues^a, Luiz C. Bertges^b, Carolina F.M.G. Pimentel^c,
Priscilla O. Neves^c, Renata L. Bormann^c, José Ricci Júnior^c,
Pedro R. Nardelli^c e Gabriela C. Toledo^{d,*}

^a Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil

^b Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil

^c Programa de Iniciação Científica e Acadêmicos de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil

^d Hospital Therezinha de Jesus (HTJ), Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora (SUPREMA), Juiz de Fora, MG, Brasil

Recebido a 1 de agosto de 2013; aceite a 21 de fevereiro de 2014

Disponível na Internet a 29 de abril de 2014

PALAVRAS-CHAVE

Trânsito intestinal;
Tegaserod;
Ratos

Resumo Quarenta ratos wistar foram divididos em 2 grupos e submetidos à administração de solução salina e tegaserode por gavagem, na dose de 1,0 ml por animal, durante 15 dias, no laboratório de fisiologia da Universidade Federal de Juiz de Fora (MG). Trinta e quatro animais, 17 de cada grupo, chegaram ao final do experimento. A dose do tegaserode foi de 0,09 mg/kg de peso. O objetivo do estudo foi observar o efeito do tegaserode sobre a velocidade do trânsito gastrointestinal de ratos Wistar. Para avaliar a velocidade de trânsito foi utilizada leitura cintilográfica do tubo digestivo dissecado dos animais, após eutanásia, desde o esôfago inferior até o reto. A avaliação cintilográfica da distância do marcador radioativo percorrido no tubo digestivo dissecado de todos os animais não mostrou diferença estatística significativa ($p=0,1$). Concluímos em nosso estudo que o tegaserode na dose 0,09 mg/kg não acelerou o trânsito intestinal dos ratos Wistar.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Gastreenterologia. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos os direitos reservados.

KEYWORDS

Intestinal transit;
Tegaserod;
Rats

GASTROINTESTINAL TRANSIT OF *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769) (Rodentia:Muridae) AFTER TEGASEROD ADMINISTRATION

Abstract In a study conducted at the physiology laboratory of the Federal University of Juiz de Fora (UFJF), forty wistar rats were divided into two groups, one receiving saline, and the

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: gabrielacumani9@gmail.com (G.C. Toledo).

other gavage-administered tegaserod, 1.0 ml/animal, for 15 days. Thirty-four animals, seventeen in each group, reached the end of the experiment. Tegaserod dose was 0.09 mg/kg. The study aimed to assess the effects of tegaserod on the speed of gastrointestinal transit of wistar rats. Scintigraphic reading of the dissected digestive tracts (from the lower esophagus to the rectum) being used to assess intestinal transit. The scintigraphic assessment of the distance covered by the radiotracer in the dissected digestive tract of all animals did not show any statistically significant difference ($p=0.1$). We conclude that tegaserod, in the 0.09 mg/kg dose, did not accelerate the intestinal transit of Wistar rats.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Gastrenterologia. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introdução

O sistema digestivo é composto por vários órgãos, cada qual desempenhando funções específicas, tais como passagem do alimento (esôfago), armazenamento (estômago), digestão e absorção (intestino delgado) e eliminação de resíduos (intestino grosso)¹. A alteração da função pode gerar distúrbio de motilidade do trato gastrointestinal, através de uma maneira mais acelerada, traduzida clinicamente por diarreia, ou ao contrário, de uma maneira mais lenta, chamada obstipação. Conceitos clínicos atuais definem diarreia como aumento no número de evacuações (acima de 3 vezes ao dia) e obstipação intestinal como ausência de evacuação em intervalos maiores que 3 dias². A obstipação intestinal tem despertado interesse em pesquisadores de países desenvolvidos, como Estados Unidos e Inglaterra, visando uma melhor forma de tratamento. Nestes países são realizados estudos epidemiológicos frequentes, demonstrando gastos significativos em assistência médica com os pacientes portadores de obstipação intestinal, seja através de tratamento com medicação ou por intermédio de internação hospitalar³⁻⁵.

Muitas pesquisas têm sido realizadas para tentar descobrir uma droga ideal para o tratamento definitivo da obstipação intestinal. Os medicamentos utilizados até hoje (laxativos e procinéticos) necessitam altas doses para atingir o resultado terapêutico, podendo desencadear efeitos colaterais significativos⁶.

A função do sistema digestivo é regulada pelo sistema nervoso simpático, parassimpático e pelo sistema nervoso entérico, além de outros hormônios com ação no trato gastrointestinal⁷. A inervação se dá por 5 diferentes classes de neurônios: entéricos intrínsecos, vagais aferentes, espinhais aferentes, parassimpáticos eferentes e simpáticos eferentes⁸.

A serotonina, também denominada 5-hidroxitriptamina ou 5-HT, é uma amina biogênica e foi originalmente descoberta por Rapport (1948), durante pesquisa de substância vasoconstritora no soro de boi. O trato digestivo contém 95% do suprimento corpóreo de serotonina, principalmente nas células enterocromafins⁹. O restante de 5-HT é encontrado no sistema nervoso central e nos vasos sanguíneos. A serotonina desempenha várias funções no organismo: controle do humor, da ansiedade, do sono, do apetite, da memória e aprendizado, da hemostasia e do comportamento sexual¹⁰.

Muitos receptores serotoninérgicos com efeitos diferentes têm sido identificados em várias regiões do organismo¹¹. Estes receptores começaram a ganhar um esquema unificado de classificação com Bradley¹². Atualmente, utilizando critérios de biologia molecular, os receptores da serotonina são divididos em 7 classes distintas (5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ e 5-HT₇)^{10,13}. Os receptores mais estudados são: 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃ e 5-HT₄.

Os receptores 5-HT₃ localizam-se na área postrema (importante região desencadeadora do vômito) e nos terminais nervosos sensitivos. Quando estimulados provocam aumento da motilidade e secreção¹⁴ e excitação de neurônios desencadeadores do vômito¹⁰.

Os 5-HT₄ estão presentes no sistema nervoso central e nas terminações nervosas colinérgicas do tubo digestivo. Foram nomeados e localizados na periferia¹⁵, durante estudo de íleo de porcos-da-índia¹⁶. A ativação desse receptor libera acetilcolina e estimula o peristaltismo intestinal^{10,17}.

O peristaltismo é um movimento propulsivo básico do trato gastrointestinal ocorrendo em resposta à distensão da musculatura da parede do tubo digestivo ou a estímulos mecânicos ou químicos da mucosa¹⁸. A propulsão gastrointestinal é dependente de um reflexo entérico local denominado reflexo peristáltico¹⁹. O reflexo peristáltico apresenta uma fase oral e outra caudal. A fase oral é caracterizada pela contração da musculatura circular e relaxamento da musculatura longitudinal. Esta fase é mediada por neurotransmissores excitatórios como acetilcolina e substância P. Na fase caudal, são observados o relaxamento da musculatura circular e a contração da musculatura longitudinal. Os neurotransmissores inibitórios como o peptídeo intestinal vasoativo (VIP) e o óxido nítrico são exemplos de mediadores da fase caudal^{20,21}.

Após uma melhor compreensão da fisiologia intestinal, da descoberta dos receptores da serotonina e dos recentes avanços da biologia molecular, pesquisadores criaram novas drogas como a cisaprida, a prucaloprida e o tegaserode, capazes de se ligarem aos receptores 5-HT₄ e promoverem peristaltismo, consequentemente aumentando a velocidade de trânsito intestinal¹⁹.

O tegaserode foi desenvolvido no início da década de 90, sendo liberado para uso nos Estados Unidos a partir de 2002^{14,22,23}. É um agonista parcial e seletivo dos receptores 5-HT₄, portanto com menor probabilidade de

promover dessensibilização no receptor, causando taquifilaxia ou tolerância²⁴. Tem sido usado na prática clínica, principalmente em pacientes do sexo feminino, como opção terapêutica na síndrome do intestino irritável associada à obstipação¹⁰.

Experimentos com agonistas dos receptores 5-HT₄ demonstraram que estímulos nestes receptores promovem aceleração de trânsito colônico²⁵, iniciam o reflexo peristáltico²⁶ e aumentam a velocidade de propulsão ao longo do cólon²⁷.

Este trabalho foi realizado durante 15 dias consecutivos no laboratório de fisiologia da Universidade Federal de Juiz de Fora. O objetivo desse estudo foi mostrar através da avaliação cintilográfica, a distância percorrida pelo traçador radioativo ao longo do intestino delgado, a partir de administração gástrica (gavagem).

Estudos experimentais em ratos

Amemiya et al.²⁸ revelaram, em estudos *in vitro*, a presença do receptor 5-HT₄ nos nervos colinérgicos em faixas de musculatura do fundo do estômago de ratos.

Coelho et al.²⁹ estudaram em ratos o limiar da dor durante distensão colorretal e concluíram que o tegaserode possui propriedade antinociceptiva ao ativar o receptor 5-HT₄.

Hicks et al.³⁰ mostraram os efeitos do tegaserode no receptor agonista 5-HT₄ estimulando o trânsito do intestino delgado de ratos, mas não observaram ação antinociceptiva visceral.

James et al.³¹ estudaram segmentos de estômago de camundongos normais e diabéticos sob ação de serotonina e tegaserode e mediram a tensão da contração muscular do antro, fundo e piloro nestes 2 grupos experimentais. Observaram que a contração no fundo e no piloro, em ambos os grupos, foi maior com o efeito da serotonina. No antro dos camundongos normais a contração dos que usaram serotonina foi maior. O contrário ocorreu no antro dos camundongos diabéticos, onde a contração muscular com o tegaserode foi mais intensa.

Jiao et al.³² estudaram os efeitos do tegaserode na distensão retal e expressão c-Fos no sistema límbico em 2 grupos de ratos (48 animais com hipersensibilidade colônica obtida pela injeção via anal de ácido acético e 24 animais do grupo controle recebendo apenas administração via anal de solução salina). A estimulação do cólon foi feita por balões inflados no reto. A contagem de células Fos imunorreativas foi realizada através de programação por computador. Mostraram que o tegaserode inibe resposta à distensão nociva, sendo que o efeito foi mais evidente no grupo hipersensível, e atenua a expressão Fos no sistema límbico, podendo ser usado para o alívio de dores viscerais.

Sun et al.³³ investigaram os mecanismos do tegaserode na redução da sensibilidade visceral por meio de observação de Fos, da substância P e da expressão do peptídeo relacionado ao gene calcitonina (CGRP) na medula espinhal lombo-sacral induzida por inflamação colônica por instilação intraluminal de ácido trinitrobenzenosulfônico (TNBS) em 24 ratos, durante 7 dias. Fos serve como um marcador quantificável para identificar populações neuronais ativadas por estímulos nocivos somático e visceral. A estimulação de víscera oca induz um padrão específico de expressão Fos na medula

espinhal, refletindo a intensidade do estímulo. A contagem de células Fos imunorreativas e medidas de densidade da substância P e do CGRP foram feitas por programa de computador. Concluíram que o tegaserode diminuiu a expressão Fos e substância P no corno dorsal da medula espinhal, podendo, portanto, exercer efeito antidoloroso.

Liang et al.³⁴ induziram hipersensibilidade visceral em ratos neonatos através de distensão retal diária. Administraram tegaserode aos animais na fase adulta e observaram um aumento no limiar da dor ao estímulo nocivo, sugerindo uma propriedade antidolorosa do medicamento na hipersensibilidade visceral.

Métodos de medida de trânsito intestinal

As técnicas cintilográficas podem medir sequencialmente o esvaziamento gástrico, o trânsito do intestino delgado e o trânsito colônico em humanos, e métodos comparáveis em estudos experimentais em animais são de grande utilidade³⁵.

Hinton et al.³⁶ desenvolveram um novo método de estudo de tempo de trânsito intestinal utilizando marcadores radioopacos.

Iwanaga et al.³⁷ efetuaram medida cintilográfica do trânsito gastrointestinal regional em cães e examinaram os efeitos de drogas procinéticas. Foram dados 2 isótopos para cães em jejum. Partículas marcadas com ^{99m}Tc foram misturadas ao alimento canino e partículas marcadas com ¹¹¹In foram fornecidas em uma cápsula de gelatina revestida com um polímero pH-sensível, projetado para se dissolver no intestino distal. Foram obtidas imagens por gama-câmara por até 24 horas. As drogas procinéticas foram injetadas por via intravenosa e mostraram acelerar o trânsito. A cintilografia com uso de 2 isótopos foi considerada uma técnica simples e prática para o estudo do trânsito gastrointestinal em cães.

Viramontes et al.³⁸ estudaram 2 parâmetros clinicamente úteis que são o meio tempo de esvaziamento gástrico ($t^{1/2}$) e as proporções esvaziadas em 2-4 horas. Atualmente, a melhor ferramenta para medição para os valores $t^{1/2}$ é a cintilografia. Testes respiratórios com isótopos estáveis foram introduzidos recentemente para medir o esvaziamento gástrico devido às vantagens em potencial, tais como realização do teste no próprio quarto, análise automatizada de laboratório, aplicação em locais onde as facilidades da gama-câmara não estão disponíveis, além de evitar efeito da radiação, facilitando estudos de pesquisa em crianças e gestantes.

Cremonini et al.³⁹ afirmaram que vários estudos têm relatado considerável variabilidade nas taxas de trânsito gastrointestinal em indivíduos saudáveis. A medida cintilográfica do esvaziamento gástrico é amplamente aceita por clínicos e pesquisadores e tem sido utilizada em vários centros com grandes variações na execução dos testes, consistindo basicamente na injeção de isótopo através de um tubo oro-cecal.

Material e métodos

Experimento

Foram utilizados 40 ratos wistar, *Rattus norvegicus* (Berkhout, 1769), adultos, machos, com 60 dias de vida,

obtidos no Centro de Biologia da Reprodução, no Campus Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (MG).

O trabalho foi iniciado somente após consentimento do Comitê de Ética Animal e procurou-se utilizar técnicas menos agressivas objetivando preservar o bem-estar animal.

Os animais foram sorteados por amostragem aleatória simples e designados para o grupo controle (grupo C) ou para o grupo experimental (grupo E). Estavam acondicionados em gaiolas individuais de polipropileno ($49 \times 34 \times 16$ cm, modelo GC-112, Beiramar), com proteção de grade na região superior e maravalha no fundo mantidos em local arejado (Laboratório de Fisiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora), com iluminação natural e artificial (12 horas) e escuridão (12 horas) à temperatura ambiente. As gaiolas eram separadas 10 cm uma das outras e receberam numeração de 1C até 20C no grupo controle e de 1E a 20E no grupo experimental de acordo com o sorteio, permanecendo sempre no mesmo local até o final do experimento. Duas estantes, uma para o grupo controle e outra para o experimental, foram usadas para a disponibilização das gaiolas. As estantes possuíam barras de metal, dispostas de modo horizontal, dividindo o móvel em andares. O andar superior distava 146 cm do chão, enquanto o andar mais inferior estava a apenas 22 cm do solo.

Os animais tiveram 7 dias de adaptação ao novo ambiente e receberam água através de garrafas de vidro numeradas (numeração idêntica à da gaiola) e adaptadas a um bico de metal, conectado a uma rolha de borracha, lembrando o aspecto de uma mamadeira. O uso destes materiais procurava evitar o desperdício da água quando a garrafa era colocada de maneira inclinada sobre a grade de proteção da gaiola. A ração foi administrada à vontade durante os 7 dias de período adaptativo. A maravalha era trocada a cada 5 dias.

O experimento teve início no oitavo dia após a chegada dos ratos e seguiu sempre a mesma rotina diária.

Os ratos eram pesados e encaminhados para a administração intragástrica por sonda metálica (gavagem) de solução fisiológica (grupo controle) ou tegaserode (grupo experimental). A gavagem foi realizada sempre por 2 pessoas; a primeira introduzindo a sonda metálica até atingir o estômago e a segunda fixando as patas traseiras do animal com a finalidade de evitar que o mesmo se ferisse ao movimentá-las (fig. 1). O horário da realização do procedimento girava em torno de 11 horas da manhã.

Os ratos do grupo C receberam por 15 dias através de gavagem 1,0 ml de solução fisiológica 0,9% enquanto os ratos do grupo E receberam 1,0 ml de tegaserode na concentração 0,03 mg/ml.

A dosagem de 0,03 mg/ml de tegaserode foi obtida pela trituração e maceração do comprimido de 6,0 mg até atingir a forma de pó e diluição em 200 ml de solução salina, para conseguir a concentração desejada.

Foram usadas seringas plásticas (para a injeção da solução salina ou tegaserode), da marca Embramac, com 1,0 ml de capacidade, separadas para cada grupo e luvas descartáveis, tamanho médio, marca Embramac para a manipulação dos animais.



Figura 1 Preparo do animal para a gavagem.

Avaliação do trânsito intestinal

A avaliação do trânsito intestinal aconteceu no décimo quinto dia do estudo.

Os 17 animais restantes de cada grupo (3 animais do grupo controle e 3 do grupo experimental morreram durante o estudo), após serem pesados pela manhã, foram deixados em jejum completo por 6 horas. Foi administrada uma substância radioativa (traçador), denominada fitato, inerte ao trato gastrointestinal (não é absorvida nem secretada pelo tubo digestivo). O traçador foi marcado com o pertecnato de tecnécio, na quantidade de 37 mega bequeréus (01 mCi), num volume de 1,0 ml por animal.

O fitato utilizado no experimento é produzido pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) através do Instituto de Pesquisa Energética e Nuclear (IPEN). Cada frasco é composto de 20 mg de fitato de sódio e 1,0 mg de cloreto de estanho.

Para a administração da substância radioativa foram utilizadas seringas próprias, em número de 34, identificadas e numeradas de 1-34, contendo a dosagem individual de cada animal, ou seja, 37 MBq (01 mCi) de atividade em 1,0 ml de volume por seringa. A atividade de cada seringa foi contada, antes e após a realização do experimento, em um calibrador de dose apropriado para monitorar a atividade residual.

Os primeiros ratos do grupo controle e do experimento receberam, simultaneamente, as dosagens pré-estabelecidas de substância radioativa. Em seguida, os outros ratos (segundo do grupo C e segundo do grupo E) receberam as substâncias 10 minutos após os primeiros, e assim sucessivamente, até atingir o décimo sétimo animal de cada grupo.



Figura 2 Tubo digestivo dissecado.

Todos os animais foram mortos por inalação de éter etílico exatamente uma hora após a administração da substância radioativa, obedecendo a numeração pré-estabelecida (1C, 1E, 2C, 2E até o último animal). O tubo digestivo foi retirado em toda a sua extensão, após dissecação cuidadosa, desde o esôfago terminal até o reto, evitando risco de perfuração da parede e, consequentemente, sem comprometer a avaliação cintilográfica. Ligaduras realizadas com fio cirúrgico (seda 3-0, Ethicon) na transição esôfago-gástrica, no piloro, na válvula íleo-cecal, 10 cm abaixo da válvula íleo-cecal e no reto, tinham finalidade de evitar a migração do conteúdo digestivo e do material radioativo durante a dissecação e transporte, impedindo, portanto, interferência na avaliação cintilográfica e nos resultados finais (fig. 2).

Foram usadas luvas descartáveis (tamanho médio, Embramac), que eram trocadas e desprezadas após cada dissecação, evitando contaminação radioativa de um animal para o outro.

O material cirúrgico foi composto por tesouras curvas delicadas, pinças anatômicas, pinças hemostáticas e cabo de bisturi número 4 com lâmina cortante número 23 para a secção das peças cirúrgicas. Todo o material cirúrgico utilizado, exceto as lâminas de bisturi que eram desprezadas após cada dissecação, foi lavado com soro fisiológico sempre após o término de cada procedimento.

Todo o trato digestivo retirado de cada animal foi identificado com numeração individual e colocado de maneira esticada em uma superfície de papel (fig. 3). Ao final do experimento, todas as 34 peças cirúrgicas foram encaminhadas do laboratório de fisiologia da Universidade Federal de Juiz de Fora até ao Hospital Monte Sinai, para a avaliação pela cintilografia no Serviço de Medicina Nuclear.

Os tubos digestivos dissecados colocados lado a lado, 4 por vez, na superfície de papel, correspondendo ao trato digestivo de 2 animais de cada grupo (controle e experimental), foram submetidos à avaliação cintilográfica. Marcações radioativas eram feitas nas porções proximal (transição esôfago-gástrica) e distal (reto) para facilitar a leitura do exame após a impressão em papel específico.

A superfície de papel, contendo o trato gastro-intestinal dissecado, foi colocada em uma gama-câmara digital tomográfica, de 2 cabeças, modelo Helix, fabricada pela



Figura 3 Tubo digestivo de 4 animais.

Elsint-GE para quantificar a migração do fitato-^{99m}Tc ao longo do tubo digestivo.

O computador de aquisição de imagens é um sistema SP e as imagens foram processadas em uma estação de trabalho (workstation) do tipo Entegra, todos também de fabricação Elscint-GE.

A aquisição das imagens foi feita em modo de aquisição estática, na projeção anterior, em matriz 256x256, com zoom de 2, até se obter 100.000 contagem por animal.

As imagens, já na estação de trabalho Entegra, eram processadas e documentadas separadamente para cada animal em filme próprio. O filme mostrava o tamanho total do tubo digestivo de cada animal bem como a distância percorrida, em uma hora, pela substância radioativa (fig. 4). Com o tempo constante, foram consideradas mais rápidas as medidas radioativas que atingiram maior distância.

Para a representação resumida dos dados foram utilizadas técnicas de estatística descritiva e análise exploratória de dados, com representação gráfica através de diagramas do tipo «Box-Plot».

Para a análise comparativa dos grupos utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney, já que não existia a garantia da normalidade dos dados. A hipótese nula assumida foi a de igualdade de médias e o nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

Todos os dados foram submetidos à análise estatística.

Resultados

Animais

Dos 40 animais do início do experimento, 6 morreram durante o estudo, sendo 3 de cada grupo, restando ao final 34 ratos.

Os animais mortos do grupo experimental foram os ratos 8E (6.º dia do experimento por falsa via na gavagem), 16E (6.º dia com sangramento nasal e insuficiência respiratória) e 19E (12.º dia sem causa definida). Os animais mortos do grupo controle foram os ratos 9C (10.º dia do experimento por falsa via na gavagem), 10C (2.º dia com insuficiência

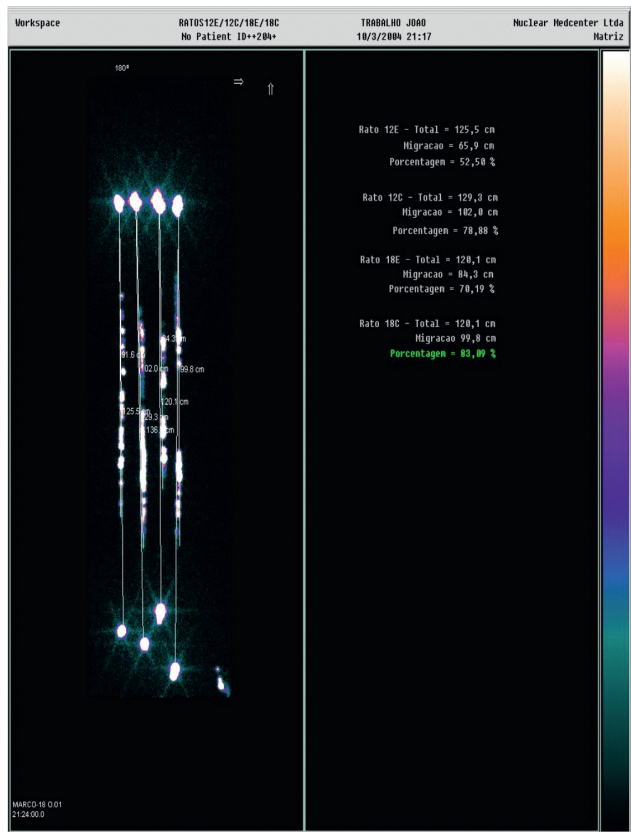


Figura 4 Imagens processadas.

respiratória) e 19C (7.º dia com apatia e insuficiência respiratória).

É importante salientar que os animais 19E, 9C, 10C e 19C eram os que estavam mais próximos do solo, no andar inferior das respectivas estantes utilizadas para acomodação das gaiolas.

Avaliação do trânsito intestinal

Os 17 animais de cada grupo, após serem pesados pela manhã, foram deixados em jejum completo por 6 horas. Após este período de jejum, receberam por gavagem, alternadamente, ou seja, ora rato do grupo controle ora do grupo experimental, uma substância radioativa na dose de 1,0 ml, até o último animal do estudo. Exatamente uma hora após a administração da substância, cada animal foi morto por inalação de éter com retirada subsequente do tubo digestivo para análise cintilográfica da distância percorrida pelo traçador no tubo digestivo.

Em nenhum dos 34 tubos digestivos dissecados foi evidenciada a presença da substância radioativa no ceco, ou seja, uma hora após a administração do traçador por gavagem, somente o intestino delgado dos animais foi alcançado pelo mesmo, conforme avaliação pela cintilografia. Nos 17 pares de animais avaliados simultaneamente (grupo controle e experimental) notou-se que o traçador percorreu uma distância maior no tubo digestivo, durante uma hora, em 12 animais do grupo controle contra 5 animais no grupo experimental. Ao limitar em 75% (3/4 do tubo digestivo) percorrido pelo traçador, nota-se que apenas 6 animais do grupo

Tabela 1 Velocidade de trânsito e avaliação cintilográfica do grupo experimental

Ratos	Medida TGI (cm)	Distância (cm)	%
1E	110,9	95,3	85,9
3E	100,8	59,7	59,2
6E	106,7	65,9	61,7
7E	126	89,9	71,3
12E	125,5	65,9	52,5
18E	120,1	84,3	70,2
2E	123,8	87,8	70,9
4E	127	90,4	71,2
5E	112,5	83,1	73,8
9E	127,5	99,2	77,8
10E	132,2	97,5	73,7
11E	123,4	99,1	80,3
13E	126	91,1	72,3
15E	114,5	88,9	77,6
14E	113,6	81,1	71,4
17E	126,8	103,7	81,8
20E	117,2	95,2	81,2

controle tiveram mais de 75% de seu trato digestivo percorrido pela substância radioativa (ratos 1E, 9E, 11E, 15E, 17E e 20E), enquanto no grupo controle o número de animais que tiveram mais de 75% do tubo digestivo percorrido pelo traçador foi maior, ou seja, 11 animais (ratos 6C, 7C, 12C, 18C, 11C, 13C, 15C, 16C, 14C, 17C e 20C). A ordem dos animais citados anteriormente obedeceu ao esquema de injeção da substância, podendo ser acompanhada com mais detalhes nas tabelas nº 1 e 2.

As medidas do tubo digestivo de cada animal foram calculadas na processadora de imagens, assim como o percentual da distância percorrida pelo traçador.

O animal do grupo experimental com maior quantidade de migração pela substância radioativa no tubo digestivo foi o rato 1E, com 85,9% de migração, explicada da seguinte

Tabela 2 Velocidade de trânsito e avaliação cintilográfica do grupo controle

Ratos	Medida TGI (cm)	Distância (cm)	%
1C	122,5	83,3	68
3C	118	81,7	69,2
6C	112,8	88,1	78,1
7C	126,3	97,7	77,3
12C	129,3	102	78,8
18C	120,1	99,8	83,1
2C	124,6	90,4	72,5
4C	131,5	95,4	72,5
5C	107,8	72,2	67
8C	117,8	86,4	73,3
11C	126,5	97	76,6
13C	125,8	97	77,1
15C	131	104,1	79,4
16C	112,8	89	78,9
14C	126	109,5	86,9
17C	120,3	95,9	79,7
20C	112,8	93,5	82,9

Tabela 3 Distância percorrida pelo traçador

Grupo	n	Média	Desvio padrão	p
Medida TGI (cm)				
Controle	17	121.524	7.038	0,634
Experim.	17	119.676	8.626	
Distância (cm)				
Controle	17	93.118	9.137	0,160
Experim.	17	86.947	12.636	
%				
Controle	17	76.547	5.500	0,193
Experim.	17	72.518	8.535	

forma: 110,9 cm de tubo digestivo, sendo que 95,3 cm foram marcados pela substância. Por outro lado, o animal do grupo experimental com menor migração foi o rato 12E, com 52,5% de migração (125,5 cm de tubo digestivo, mas apenas 65,9 cm de marcação pelo traçador). O rato 10E apresentou o tubo digestivo mais longo com 132,2 cm enquanto o rato 3E revelou o tubo digestivo mais curto com 100,8 cm. Todos os dados são mostrados na tabela 1

O animal do grupo controle com maior quantidade de migração pela substância radioativa no tubo digestivo foi o rato 14C, com 86,9% de migração, explicada da seguinte forma: 126 cm de tubo digestivo, sendo que 109,5 cm foram marcados pela substância. Por outro lado, o animal do grupo controle de menor migração foi o rato 5C, com 67% de migração (107,8 cm de tubo digestivo, mas apenas 72,2 cm de marcação pelo traçador). O rato 4C apresentou o tubo digestivo mais longo com 131,5 cm enquanto o rato 5C revelou o tubo digestivo mais curto com 107,8 cm. Todos os dados são mostrados na tabela 2.

A distância percorrida pelo traçador após uma hora de administração por gavagem foi menor no grupo experimental ($86,9 \pm 12,6$ cm) em relação ao grupo controle ($93,1 \pm 9,1$ cm), porém não houve diferença significativa ($p = 0,1$) conforme demonstrado a seguir (tabela 3). Não foi objetivo avaliar o esvaziamento gástrico ou velocidade de trânsito colônico (fig. 5).

Discussão

Dos 40 animais iniciais, 34 chegaram ao final do experimento. Duas mortes, uma em cada grupo, foram causadas por falsa via na gavagem. Três animais morreram apresentando insuficiência respiratória prévia, complicação frequente devido à ação da amônia resultante da decomposição dos excrementos, conforme relatado por Ribeiro⁴⁰. Em apenas um animal não encontramos causa explicável para sua morte.

A medição do tubo digestivo pela cintilografia mostrou que o marcador radioativo percorreu menos o trato gastrointestinal no grupo experimental ($86,9 \pm 12,6$ cm) em relação ao grupo controle ($93,1 \pm 9,1$ cm), não ocorrendo diferença significativa ($p = 0,1$). Em nenhum dos 34 tubos digestivos submetidos à avaliação cintilográfica foi notada a presença do traçador no ceco. Outro detalhe que nos chamou atenção foi que em somente 6 animais do grupo experimental houve percurso de mais de 75% da extensão do tubo digestivo,

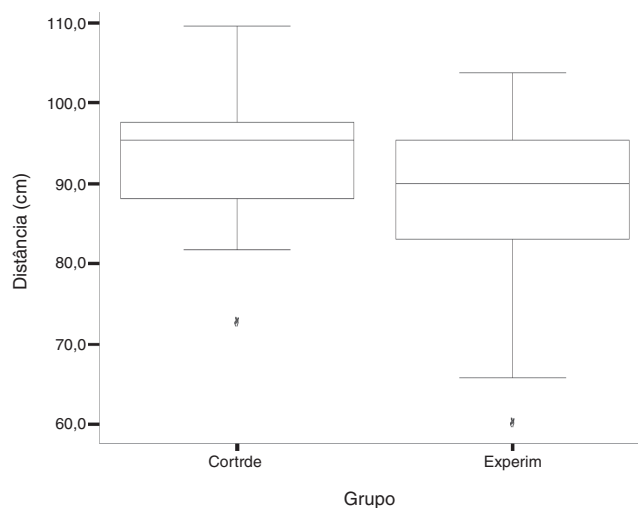


Figura 5 O gráfico representativo do percurso da substância radioativa uma hora após administração nos 2 grupos encontra-se a seguir.

contra 11 animais do grupo controle, no tempo de uma hora após a administração do marcador. Alguns autores, em experimentos com animais, mostraram a ação do tegaserode sobre a motilidade intestinal. Jin et al.²⁷ observaram efeito propulsivo da droga em cólon de porcos-da-índia em doses menores que $1 \mu\text{M}$, mas em concentrações maiores não relataram tal efeito. Nguyen et al.²⁵ estudaram motilidade colônica de cães, em 2 dias de experimento, administrando via endovenosa dosagens de 0,03, 0,1 e 0,3 mg/kg de tegaserode. Encontraram pouca alteração no trânsito gástrico e do intestino delgado, mas perceberam aceleração no trânsito do intestino grosso após uma hora de administração. Também neste estudo relataram que a menor dose apresentou melhor efeito nas contrações colônicas pós-prandiais. Nossos resultados apresentam algumas variações comparadas aos estudos anteriores. A administração do marcador radioativo foi realizada sem problemas, conforme discutido adiante, não tendo interferência direta no resultado. O nosso experimento teve duração maior do que os trabalhos citados. Podemos tentar justificar a falta de aceleração do trânsito por uma provável dessensibilização do receptor 5-HT_4 , diminuindo a ação do tegaserode no intestino, embora Camilleri⁵ em revisão de literatura tenha citado um estudo onde mais de 300 pacientes chegaram a utilizar a medicação por mais de 330 dias, sem relato de tolerância à droga. A dose utilizada em nosso trabalho foi 0,03 mg/ml ou 0,09 mg/kg, portanto em concentração ideal para produzir os efeitos no trato gastrointestinal. Em síntese, no presente estudo não evidenciamos aceleração do trânsito intestinal uma hora após a administração do marcador por gavagem, na dose de 0,09 mg/kg.

A contagem radioativa das seringas cheias e vazias no curiômetro e na gama-câmara em ambos os grupos não mostrou diferença significativa, provando que a administração por gavagem foi bastante eficaz não interferindo nas demais análises do experimento. A maioria dos trabalhos de medida de trânsito utiliza marcadores radioativos em cápsulas ou adicionados à dieta^{37,38}. Decidimos pela contagem do material antes e após a administração por gavagem para mostrar realmente se houve igualdade na distribuição do marcador

entre os 2 grupos evitando interpretações e resultados errôneos.

Conclusão

O tegaserode na dosagem 0,09 mg/kg administrado por gavagem, em ratos wistar, durante 15 dias não demonstrou acelerar o trânsito gastrointestinal no intestino delgado.

Responsabilidades éticas

Proteção dos seres humanos e animais. Os autores declaram que os procedimentos seguidos estavam de acordo com os regulamentos estabelecidos pelos responsáveis da Comissão de Investigação Clínica e Ética e de acordo com os da Associação Médica Mundial e da Declaração de Helsinki.

Confidencialidade dos dados. Os autores declaram que não aparecem dados de pacientes neste artigo.

Direito à privacidade e consentimento escrito. Os autores declaram que não aparecem dados de pacientes neste artigo.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Bibliografia

1. Guyton AC. Tratado de Fisiologia Médica. 9 th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.
2. Heine JA, Wong WD, Goldberg SM. Surgical treatment for constipation. Surg Gynecol Obst. 1993;176:403–10.
3. Drossman DA. Irritable bowel syndrome. Am Fam Phys. 1989;39:159–64.
4. Talley NJ, Zinsmeister AR, Melton LJ. Irritable bowel syndrome in a community: Symptom subgroups, risk factors and health care utilization. Am J Epidemiol. 1995;142:76–83.
5. Camilleri M, Williams DE. Economic burden of irritable bowel syndrome: Proposed strategies to control expenditures. Pharmacoeconomics. 2000;4:331–8.
6. Camilleri M. Management of the irritable bowel syndrome. Gastroenterology. 2001;120:652–68.
7. Dhasmana KM, Zhu YN, Cruz SL, Villalon CM. Gastrointestinal effects of 5-hydroxytryptamine and related drugs. Life Sci. 1993;53:1651–61.
8. Holzer P, Schicho R, Holzer-Petsche U. The gut as a neurological organ. Wien Klin Wochenschr. 2011;113:647–60.
9. Saxena PR. Serotonin receptors: Subtypes functional responses and therapeutic relevance. Pharmac Ther. 1995;66:339–68.
10. Crowell MD. The role of serotonin in the pathophysiology of irritable bowel syndrome. Br J Pharmacol. 2004;114:1285–93.
11. Hansen MB. Small intestine manometry. Physiol Res. 2002;51:541–56.
12. Martin GR, Humphrey PPA. Classification review: Receptors for 5-hydroxytryptamine: current perspectives on classification and nomenclature. Neuropharmacology. 1994;33:261–73.
13. Hannon J, Hoyer D. Review article: Serotonin receptors and systems: Endless diversity. Acta Biologica Szegediensis. 2002;46:1–12.
14. Rivkin A. Tegaserod maleate in the treatment of irritable bowel syndrome: A clinical review. Clinical Therapeutics. 2003;25:1952–74.
15. Baxter GS, Craig DA, Clarke DE. 5-Hydroxytryptamine₄ receptors mediate relaxation of the rat oesophageal tunica muscularis mucosae. Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol. 1991;343:439–46.
16. Appel-Dingemanse S, Kumle A, Hubert M, Duvauchelle T. First pharmacokinetic-pharmacodynamic study in humans with a selective 5-hydroxytryptamine₄ receptor agonist. J Clin Pharmacol. 1997;37:229–37.
17. Buchheit KH, Buhl T. Prokinetic benzamides stimulate peristaltic activity in the isolated guinea pig ileum by activation of 5-HT₄ receptors. Eur J Pharmacol. 1991;205:203–8.
18. Grider JR, Jin JG. Distinct populations of sensory neurons mediate the peristaltic reflex elicited by muscle stretch and mucosal stimulation. J Neurosci. 1994;14:2854–60.
19. Hegde SS, Eglén RM. Peripheral 5-HT₄ receptors. FASEB J. 1996;10:1398–407.
20. Makhlof GM, Grider JR. Nonadrenergic noncholinergic inhibitory transmitters of the gut. News Physiol Sci. 1993;8:195–9.
21. Sarna SK. Gastrointestinal longitudinal muscle contractions. Am J Physiol. 1993;265:156–64.
22. Buchheit KH, Gamse R, Giger R, Hoyer D, Klein F, Kloppner E, et al. The serotonin 5-HT₄ receptor. 1. Design of a new class of agonists and receptor map of the agonist recognition site. J Med Chem. 1995;38:2326–30.
23. Appel-Dingemanse S. Clinical pharmacokinetics of tegaserod a serotonin 5-HT₄ receptor partial agonist with promotile activity. Clin Pharmacokinet. 2002;41:1021–42.
24. Camilleri M. Review article: Tegaserod. Aliment Pharmacol Ther. 2001;15:277–89.
25. Nguyen A, Camilleri M, Kost LJ, Metzger A, Sarr MG, Hanson RB, et al. SDZ HTF 919 stimulates canine colonic motility and transit in vivo. J Pharmacol Exp Ther. 1997;280:1270–6.
26. Grider JR, Fox-Orenstein AE, Jin JG. 5-hydroxytryptamine₄ receptor agonists initiate the peristaltic reflex in human, rat and guinea pig intestine. Gastroenterology. 1998;115:370–80.
27. Jin JG, Fox-Orenstein AE, Grider JR. Propulsion in guinea pig colon induced by 5-hydroxytryptamine (5-HT) via 5-HT₃ and 5-HT₄ receptors. J Pharmacol Exp Ther. 1999;288:93–7.
28. Amemiya N, Hatta S, Takemura H, Ohshika H. Characterization of the contractile response induced by 5-methoxytryptamine in rat fundus strips. Eur J Pharmacol. 1996;318:403–9.
29. Coelho AM, Rovira P, Fioramonti P, Bueno L. Antinociceptive properties of HTF 919 (tegaserod), a 5-HT₄ receptor partial agonist, on colorectal distension in rats. Gastroenterology. 2000;118:A834.
30. Hicks GA, Clayton NM, Gaskin PJ, Kirkup AJ, Su X, Joshi S, et al. 5-HT₄ receptor agonists stimulate small intestinal transit but do not have direct visceral antinociceptive effects in the rat. Gastroenterology. 2001;120:A6.
31. James NA, Ryan JP, Crowell MD, Parkman HP. Regional gastric contractility alterations in a diabetic gastroparesis mouse model: Effects of cholinergic and serotonergic stimulation. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2004;287:612–9.
32. Jiao HM, Xie PY. Tegaserod inhibits noxious rectal distension induced responses and limbic system c-Fos expression in rats with visceral hypersensitivity. World J Gastroenterol. 2004;10:2836–41.
33. Sun YN, Luo JY. Effects of tegaserod on Fos, substance P and calcitonin gene-related peptide expression induced by colon inflammation in lumbarsacral spinal cord. World J Gastroenterol. 2004;10:1830–3.

34. Liang LX, Zhang Q, Qian W, Hou XH. Antinociceptive property of tegaserod in a rat model of chronic visceral hypersensitivity. *Chin J Dig Dis*. 2005;6:21–5.
35. Griffith GH, Owen GM, Kirkman S, Shields R. Measurement of rate of gastric emptying using chromium-51. *Lancet*. 1966;1:1244–5.
36. Hinton JM, Lennord-Jones JE, Young AC. A new method for studying gut transit times using radioopaque markers. *Gut*. 1969;10:842–7.
37. Iwanaga Y, Wen J, Thollander MS, Kost LJ, Thomforde GM, Allen RG, et al. Scintigraphic measurement of regional gastrointestinal transit in the dog. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 1998;275:612–9.
38. Viramontes BE, Kim DY, Camilleri M, Lee JS, Stephens D, Burton DD, et al. Validation of a stable isotope gastric emptying test for normal accelerated or delayed gastric emptying. *Neurogastroenterol Motil*. 2001;13:567–74.
39. Cremonini F, Mullan BP, Camilleri M, Burton DD, Rank MR. Performance characteristics of scintigraphic transit measurements for studies of experimental therapies. *Aliment Pharmacol Ther*. 2002;16:1781–90.
40. Ribeiro SML, Campos P, Tirapegui JO. rato como animal de laboratório: histórico, dados biológicos e análise crítica do seu uso. *Farm Bioqui Univ S Paulo*. 1995;31:21–8.