

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Centro de Pesquisas

Laboratório de Motilidade Digestiva Experimental

Serviço de Gastroenterologia

Serviço de Engenharia Biomédica

TESE DE DOUTORADO

**IMPLANTE ENDOSCÓPICO NO ESÔFAGO DISTAL
DE POLIMETILMETACRILATO PARA CONTROLE
DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO
ESTUDO EXPERIMENTAL EM MODELO ANIMAL**

DOUTORANDA: CARMEN PÉREZ DE FREITAS FREITAG

ORIENTADOR: Prof. Dr. SÉRGIO G. S. DE BARROS

2003

Porto Alegre

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia

Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Centro de Pesquisas
Laboratório de Motilidade Digestiva Experimental
Serviço de Gastroenterologia
Serviço de Engenharia Biomédica

**IMPLANTE ENDOSCÓPICO NO ESÔFAGO
DISTAL DE POLIMETILMETACRILATO PARA
CONTROLE DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO
ESTUDO EXPERIMENTAL EM MODELO ANIMAL**

CARMEN PÉREZ DE FREITAS FREITAG

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia
em dezembro de 2003, como requisito parcial
para a obtenção do título de Doutor

Dezembro, 2003
Porto Alegre

F866i Freitag, Carmen Pérez de Freitas

Implante endoscópico no esôfago distal de polimetilmetacrilato para controle do refluxo gastroesofágico : estudo experimental em modelo animal / Carmen Pérez de Freitas Freitag ; orient. Sérgio Gabriel Silva de Barros. – 2003.

112 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia, Porto Alegre, BR-RS, 2003.

1. Refluxo gastroesofágico : Terapia 2. Implantes artificiais 3. Polimetilmetacrilato 4. Modelos animais de doenças I. Barros, Sérgio Gabriel Silva de II. Título.

NLM: WI 250

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

*De tudo ficaram três coisas:
A certeza de que estaremos sempre começando,
a certeza de que é preciso continuar e a certeza de que
seremos interrompidos antes de terminar.
Fazer da interrupção, um novo caminho,
Fazer da queda, um passo de dança,
Do medo, uma ponte,*

*Da procura, um encontro.”
(Fernando Sabino)*

*Quantas vezes desejei sua presença, busquei nas minhas dúvidas e dificuldades o seu apoio, compreensão, até mesmo sua reprovação...
A lágrima que teima em cair é a expressão da minha gratidão e da saudade do seu carinho. Sua garra e o seu exemplo terão a continuidade na concretização e no brilho do meu ideal. E, por todo*

o tempo que ainda viver, perpetuarei sua memória, pois uma árvore morre mas deixa, dentro de seus frutos, a semente de sua vida. Você estará sempre comigo.”
Para siempre, Papá.

Uns são professores; alguns são mestres; poucos são homens.

*Aos primeiros, escuta-se; aos segundos, segue-se;
Aos últimos, respeita-se.”
Ao Prof. Dr. Sérgio Gabriel Silva de Barros a quem respeito e
admiro.*

*À minha Mãe,
Com carinho
Ao Carlos,
Com Amor*

"A glória da amizade não é a mão estendida, nem o sorriso carinhoso, nem mesmo a delícia da companhia. É a inspiração espiritual que vem quando você descobre que alguém acredita e confia em você."
Para os amigos que foram surgindo no decorrer desta pesquisa, especialmente para o Marcos.



*"Suíno sendo utilizado em experimentação. Reprodução das intervenções de Galeno".
Reprodução publicada no livro De Humani Corporis Fabrica, Versalius, 1540.*

"A questão não é, podem eles raciocinar ? Ou podem eles falar ?

Mas, podem eles sofrer ?"

(Filósofo inglês Jeremy Benthan, 1789)

RECONHECIMENTO AOS ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO - SUÍNOS.

O QUE SERIA DESTA PESQUISA SEM ELES?

AGRADECIMENTOS

À Prof^ª. Dra. Yvone Avalloni de Moraes Villela de Andrade Vicente (Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP), pela valorosa contribuição em um momento crucial da pesquisa.

Ao Cleber Rosito Pinto Kruehl (cirurgião, mestrando do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia - UFRGS), por realizar todas as cirurgias nos animais e pelas horas infindáveis de reuniões e experimentos.

Ao Marcos Eugênio Soares Duarte (acadêmico da Faculdade de Ciências Veterinárias - UFRGS, Assistente de Veterinária do Centro de Pesquisas do HCPA), pela dedicação ilimitada ao nosso Experimento.

Ao Prof. Dr. David Driemeier (patologista veterinário – Faculdade de Ciências Veterinárias - UFRGS), pelas horas dispensadas na análise histológica.

Ao Sr. Paulo Sanches (engenheiro – Serviço de Engenharia Biomédica – HCPA), pelas idéias e soluções que viabilizaram a continuidade do Projeto.

Ao Sr. Paulo Thomé (engenheiro – Serviço de Engenharia Biomédica – HCPA), pelas idéias e horas de trabalho dispensadas ao experimento.

À Profa. Dra. Sidia Maria Callegari Jacques – (Departamento de Genética, UFRGS), pela contribuição fundamental na análise estatística do experimento.

Ao Fábio Horácio Schneider Teixeira (acadêmico da Faculdade de Ciências Veterinárias da UFRGS – Bolsista FAPERGS 2002/ 2003), pelo trabalho incansável de acompanhamento dos animais e dedicação à pesquisa.

À Agrogen® Desenvolvimento Genético por ter, na pessoa de Ana Rosa, contribuído imensamente com a doação de todos os animais utilizados no Projeto Piloto: Gastrostomia e no Experimento.

À Sadia Ltda. (Chapecó, SC) por ter demonstrado uma grande motivação, no início do nosso Projeto, prontificando-se a doar os animais para a pesquisa.

Ao Dr Almir Moojen Nacul, que nos pôs em contato pela primeira vez com o PMMA e nos cedeu a pistola dosadora, ensinando como utilizá-la.

À BioMedical Ind. Com. de Produtos Biomédicos Ltda. que gentilmente doou o PMMA utilizado no experimento.

Ao Prof. Dr. Luis Lavinski, por estar sempre procurando aprimorar o Centro de Pesquisas do HCPA, abrindo novos horizontes de pesquisa.

À Profa. Dra. Roseli Möllerke, por ter, com muita rapidez, oferecido soluções para os problemas ocorridos durante a realização do experimento.

À Profa. Dra. Helena Goldani, pelos comentários e sugestões muito propícios durante o desenvolvimento do Projeto.

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Grüber que prontamente ofereceu a sua ajuda para a revisão das manometrias esofágicas.

À Karin Schüler e Julia Schüler de Barros por terem tido paciência suficiente nos momentos em que precisei roubar marido e pai, respectivamente, dos curtos momentos de convívio com a Família.

À Moema Viana Goulart, secretária da Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia, que me emprestou a sua paciência e o seu ouvido para me confortar em momentos difíceis e angustiantes.

À Miriam Tatiane de Souza, estagiária da Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia, que doou muito do seu tempo no intuito de solucionar problemas burocráticos da pesquisa.

À Patrícia Ribeiro, secretária da Pós-Graduação da Endocrinologia, por tantos anos de convivência com seus momentos inesquecíveis.

À Mariane Lamberts que muito contribuiu em uma etapa tão desgastante da pesquisa oferecendo soluções para os problemas enfrentados.

Ao Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia, Faculdade de Medicina e UFRGS, pelo suporte para a presente pesquisa e pelos recursos necessários à apresentação dos trabalhos no 7º O.E.S.O. World Congress, Paris, França.

À CAPES pela concessão das verbas que tornaram possível a realização desta pesquisa.

Ao CNPq pela concessão da Bolsa de Doutorado entre 2000 e 2003, fundamental para o desenvolvimento da presente tese.

À Rosane Paixão Schlatter, pela colaboração constante com os pesquisadores.

À Fabiana Silva da Silva, pela atenção com que sempre atendeu aos pesquisadores.

SUMÁRIO

RESUMO, XVIII

ABSTRACT, XXII

1. INTRODUÇÃO, 2

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA, 4

2.1 DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO, 5

2.2 IMPLANTES E/OU OUTRAS MANIPULAÇÕES ENDOSCÓPICAS

NO ESÔFAGO PODEM CONTROLAR O REFLUXO

GASTROESOFÁGICO?, 13

2.2.1 Estudos Experimentais, 13

2.2.1.1 Modelos experimentais, 13

2.2.1.2 Modelo experimental para avaliação da pressão
intragástrica, 14

2.2.1.3 Intervenções endoscópicas para o controle do Refluxo
Gastroesofágico, 15

2.2.2 Estudos em “Anima Nobile”, 17

2.2.2.1	Avaliação da pressão de Vazão Gástrica em Seres Humanos, 17
2.2.2.2	Tratamento endoscópico em Seres Humanos, 18
2.3	A UTILIZAÇÃO DE IMPLANTES, 22
2.3.1	A Utilização de Implantes em Cirurgia Plástica, 22
2.3.1.1	Implantes naturais, 22
2.3.1.2	Implantes sintéticos, 23
2.3.2	Implantes em Urologia e Otorrinolaringologia, 26
3.	JUSTIFICATIVA, 28
4.	HIPÓTESE, 30
5.	OBJETIVOS, 32
6.	MATERIAL E MÉTODOS, 34
6.1	MATERIAIS, 35
6.1.1	Caracterização do Animal de Experimentação, 35
6.1.2	Materiais Necessários, 35
6.1.2.1	Cirurgia, 35
6.1.2.2	Manometria Esofágica, 35
6.1.2.3	Pressão e Volume de Vazão Gástricos, 35
6.1.2.4	pHmetria Esofágica, 38
6.1.2.5	Videoendoscopia, 38
6.1.2.6	Injeção de PMMA, 38
6.2	MÉTODOS, 40
6.2.1	Anestesia, 40
6.2.2	Avaliação Manométrica do Esfíncter Esofágico Inferior, 40
6.2.3	Gastrostomia, 41
6.2.4	Localização dos Sensores de pHmetria no Esôfago Distal e Registro da Pressão e do Volume de Vazão Gástricos, 44
6.2.5	Videoendoscopia e Implante Endoscópico de PMMA, 46

- 6.2.6 Projeto Piloto: Gastrostomia, 49
- 6.2.7 Projeto Piloto:Refluxo Gastroesofágico por pHmetria de
24 Horas (RGE 24H), 51
- 6.2.8 Projeto Piloto: Esofagostomia, 51

7. ANÁLISE ESTATÍSTICA,54

8. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS, 57

9. RESULTADOS, 59

9.1 PROJETOS PILOTOS, 60

- 9.1.1 Projeto Piloto: Refluxo Gastroesofágico por pHmetria de
24 Horas (RGE 24H), 60
- 9.1.2 Projeto Piloto:Esofagostomia, 60
- 9.1.3 Projeto Piloto: Gastrostomia, 62

9.2 EXPERIMENTO, 64

- 9.2.1 Características Gerais dos Animais Estudados, 64
- 9.2.2 Pressão de Vazão Gástrica (PVG), 65
- 9.2.3 Volume de Vazão Gástrico (VVG), 71
- 9.2.4 Manometria do Esfíncter Esofágico Inferior (EEI), 77
- 9.2.5 Descrição dos Achados Histológicos Pós-Implante,
do Polimetilmetacrilato, 78

10. DISCUSSÃO, 83

10.1 MODELO EXPERIMENTAL, 84

10.2 VIESES POSSÍVEIS NO MODELO DESENVOLVIDO, 85

10.3 IMPLANTE DE POLIMETILMETACRILATO, 87

10.4 PRESSÃO DE VAZÃO GÁSTRICA (PVG), VOLUME DE VAZÃO GÁSTRICO (VVG) E PRESSÃO BASAL DO EEI, 89

10.5 HISTOLOGIA, 91

11. CONCLUSÕES, 94

12. ANEXOS, 96

13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, 104

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Projeto Piloto: Esofagostomia. Resultados da pHmetria esofágica, prolongada nos dias 7 e dia 14 (n=5), 60

Tabela 2. Projeto Piloto: Esofagostomia: Valores médios da pHmetria esofágica prolongada nos dias 7 e 14 (n=5), 61

Tabela 3. Projeto Piloto: Esofagostomia. Reprodutibilidade dos valores da pHmetria esofágica prolongada em dois momentos distintos (n=5), 62

Tabela 4. Projeto Piloto: Gastrostomia: Valores individuais obtidos para a Pressão de Vazão Gástrica em dois momentos distintos (n=4), 63

Tabela 5. Médias obtidas para Pressão de Vazão Gástrica em dois momentos distintos (n=4), 64

Tabela 6. Valores individuais obtidos para Pressão de Vazão e médias em dois momentos distintos (n=14), 66

Tabela 7. Valores individuais e médias do Volume de Vazão Gástrico em dois momentos distintos (n = 14), 72

Tabela 8. Valores manométricos para o Esfíncter Esofágico Inferior (EEI) (n=14), 77

Tabela 9. Esfíncter Esofágico Inferior: Comparação em dois momentos distintos dos parâmetros estudados à manometria esofágica (n=14), 78

Tabela 10. Identificação de achados ao exame Histopatológico (n = 14), 81

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aparelho de monitorização da Pressão e Volume de Vazão Gástricos: A. Equipamento de infusão B. Traçado das curvas de Volume de Vazão Gástrico **Erro! Indicador não definido.** e de Pressão de Vazão Gástrica, respectivamente C. Infusão de volume através da gastrostomia, 37

Figura 2. A. Tubo metálico para injeção de PMMA B. Angulação da extremidade distal do Tubo Introdutor, 39

Figura 3. A. Cateter para injeção de PMMA B. Agulha na extremidade distal do cateter, 39

Figura 4. Pistola dosadora volumétrica, 39

Figura 5. Obliteração da primeira porção duodenal, 43

Figura 6. Fixação da gastrostomia e da sonda de Foley com pontos cirúrgicos, 43

Figura 7. Fechamento da ferida operatória com pinças Backaus, 43

Figura 8. Passagem do cateter de pHmetria através do “overtube”, 45

Figura 9. A. Introdução do Tubo Introdutor no esôfago. B. Passagem simultânea do Tubo Introdutor + endoscópio, 48

Figura 10. A. Cateter de injeção do PMMA montado com a pistola dosadora volumétrica B. Implante de PMMA na transição esofagogástrica do animal sob visão endoscópica, 48

Figura 11. Fluxograma do Experimento, 49

Figura 12. Fluxograma do Projeto Piloto: Gastrostomia, 50

Figura 13. Fluxograma do Projeto Piloto: Esofagostomia, 53

Figura 14. Projeto Piloto: Gastrostomia. Comparação dos valores obtidos para a Pressão de Vazão Gástrica (PVG) em dois momentos distintos (n=4), 63

Figura 15. Valores individuais das Pressões de Vazão Gástricas obtidas em dois momentos distintos (n = 14), 67

Figura 16. Gráfico da Pressão de Vazão Gástrica dia 1 X peso dia 1 (n = 14), 68

Figura 17. Gráfico da Pressão de Vazão Gástrica dia 1 corrigida pelo peso X peso dia 1 (n = 14), 68

Figura 18. Gráfico da Pressão de Vazão Gástrica dia 28 X peso dia 28 (n = 14), 69

Figura 19. Gráfico da Pressão de Vazão Gástrica dia 28 corrigido pelo peso X peso dia 28 (n = 14), 70

Figura 20. Valores médios observados para a Pressão de Vazão Gástrica em dois momentos distintos (n=14), 71

Figura 21. Gráfico dos Volumes de Vazão Gástricos obtidos em momentos distintos para cada animal (n = 14), 73

Figura 22. Gráfico do ln(VVG) dia 1 X peso do animal dia 1 (n=14), 74

Figura 23. Gráfico do ln(VVG) dia 1 corrigido X peso (n=14), 75

Figura 24. Gráfico do ln(VVG) dia 28 X peso (n=14), 75

Figura 25. Gráfico do ln(VVG) dia 28 corrigido X peso (n=14), 76

Figura 26. Valores médios observados para o Volume de Vazão Gástrico em dois momentos distintos (n=14), 77

Figura 27. Anatomia macroscópica esofágica e da transição esofagogástrica, 79

Figura 28. Histologia normal esofágica, 80

Figura 29. A. Depósito de PMMA na camada muscular do esôfago. B. Reação de células gigantes contíguas ao depósito de PMMA, 82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CBDRGE	Consenso Brasileiro da DRGE
DRGE	Doença do Refluxo Gastroesofágico
EEI	Esfíncter Esofágico Inferior
FBG	Federação Brasileira de Gastroenterologia
IBP	Inibidor da Bomba de Prótons
Log	Logaritmo
PMMA	Polimetilmetacrilato
PVG	Pressão de Vazão Gástrica
RDGE	Refluxo Duodenogastroesofágico
RtEEI	Relaxamento Transitório do Esfíncter Esofágico Inferior
TI	Tubo Introdutor

UFRGS Universidade Federal do Rio Grande do Sul

USP Universidade de São Paulo

VVG Volume de Vazão Gástrico

RESUMO

A doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) comumente afeta o esôfago e provavelmente é a condição mais prevalente no segmento alto do trato gastrointestinal, acometendo entre 5 e 45% da população ocidental.

A terapêutica atual para essa doença além de medidas gerais e dietéticas, inclui tratamento farmacológico e/ou cirurgia. Ambos podem ser eficazes, mas apresentam elevado custo financeiro. O tratamento com fármacos pode apresentar baixa aderência medicamentosa e a cirurgia tem baixa, mas não desprezível, morbidade e mortalidade. Idealmente o tratamento da DRGE deveria ser eficaz, com baixo risco e com baixo custo.

Objetivos: 1. Desenvolver um modelo experimental em suínos para o estudo do Refluxo Gastroesofágico através da Pressão e do Volume de Vazão Gástricos; 2. Avaliar a eficácia do implante endoscópico de PMMA ao nível do Esfíncter Esofágico Inferior (EEI) para aumentar a Pressão de Vazão Gástrica, o Volume de Vazão Gástrico e a Pressão Basal do EEI; 3. Descrever as reações histológicas associadas ao implante de PMMA.

Material e Métodos: Suínos da raça Large White, do sexo feminino com 8 semanas de vida foram estudados no experimento. Foi realizada manometria do esfíncter esofágico inferior com registro da pressão basal com cateter de perfusão com água e técnica de retirada lenta. Calculou-se, também, a extensão do EEI. Após, gastrostomia era realizada com colocação intragástrica da extremidade distal de uma sonda de Foley com três vias e um cateter de pHmetria esofágica introduzido via oral com o sensor distal posicionado 5 cm acima do bordo superior de esfíncter esofágico inferior. Iniciava-se,

então, a infusão contínua no estômago de uma solução de HCl a 0,02N com medida e registro simultâneos da Pressão e do Volume de Vazão Gástricos e do pH esofágico. Definiu-se a Pressão de Vazão Gástrica (PVG) e o Volume de Vazão Gástrico quando houve brusca e sustentada acidificação do esôfago distal ($\text{pH} < 3$). Após, introduzia-se um tubo metálico (Tubo Introdutor ou TI) via oral e, em seguida, o endoscópio, seguindo ambos até o esôfago distal. Cateter de nylon com agulha calibre 16 era introduzido pelo tubo introdutor e o PMMA implantado na área correspondente ao EEI com uma pistola dosadora volumétrica que permitia a injeção de volumes pré-determinados em 3 ou 4 pontos da submucosa (total por ponto = 0,73 ml de PMMA). As medidas de PVG, VVG e pressão basal do EEI foram repetidas após 28 dias, sacrificando-se os animais e removendo-se esôfago médio e distal, junção esofagogástrica, fundo e corpo gástricos para estudo histológico.

Previamente ao experimento, três projetos pilotos foram desenvolvidos. O primeiro designado como “Projeto Piloto: Refluxo Gastroesofágico por pHmetria de 24H” (RGE 24H) buscou a via de acesso transnasal para registro de pHmetria por 24 horas. No segundo, designado “Projeto Piloto: Esofagostomia”, para confirmação de refluxo gastroesofágico espontâneo em suínos da raça *Large White*, utilizou-se anestesia com associação de tiletamina 125 mg e zolazepam 125 mg em combinação com um sedativo, a xilazina a 2%. A pHmetria foi mantida por 24 horas. Os dados descritos por Kadiramanathan et al. não foram reproduzidos no nosso laboratório. Optou-se então pela realização de um terceiro projeto, “Projeto Piloto: Gastrostomia” para induzir refluxo gastroesofágico através de um modelo experimental e testar a reprodutibilidade da Pressão de Vazão Gástrica. Obteve-se sucesso.

Resultados: Trinta e sete animais foram estudados em 60 intervenções no Laboratório de motilidade experimental. O projeto piloto “RGE:24h” foi abandonado após perda de 5 animais pela anestesia com halotano e, solucionada esta questão, a sistemática infecção do tecido celular subcutâneo nasal, dificultando a manutenção do cateter de phmetria em outros 5 animais. No “Projeto Piloto: Esofagostomia”, em cinco animais estudados (cada animal em duas ocasiões diferentes) não se reproduziram os achados de refluxo espontâneo. No terceiro projeto “Projeto Piloto: Gastrostomia” quatro animais foram estudados em dois momentos diferentes obtendo-se sucesso e reprodutibilidade

dos dados. Criado o modelo experimental, quatorze suínos foram submetidos ao experimento com implante endoscópico de PMMA com os seguintes resultados:

A média dos pesos com 8 semanas de idade foi $14,98 \pm 2,43$ e 28 dias após o implante, $20,26 \pm 3,68$. O ganho ponderal foi considerado normal para a espécie.

A Pressão de Vazão Gástrica média no dia 1 foi 8,08 mmHg e no dia 28, 10,69mmHg (Teste t de *Student*: $t = 2,72$ gl = 13 p = 0,017).

Os Volumes de Vazão Gástricos médios foram: 392,86 ml para o dia 1 e 996,71 ml no dia 28 (teste t de *Student*: $t = 11,66$ gl = 13 p < 0,001).

A Pressão Basal do EEI e o comprimento do esfíncter, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

PMMA foi identificado como depósitos de grandes vacúolos no tecido intersticial ao exame histológico da junção esofagogástrica associado a histiócitos, plasmócitos e presença de células gigantes tipo Langhans indicando reação tecidual de corpo estranho em todos os animais. Fibrose e macrófagos com vacúolos intracelulares estiveram presentes em menor frequência.

Conclusões: 1. O modelo experimental, em suínos, desenvolvido viabilizou o estudo do Refluxo Gastroesofágico através da Pressão de Vazão Gástrica e Volume de Vazão Gástrico; 2. O implante de PMMA, no presente estudo, aumentou a Pressão de Vazão e o Volume de Vazão Gástricos, mas não a Pressão Basal do EEI, nem tampouco aumentou o seu comprimento; 3. Depósito de PMMA implantado e evidência de processo inflamatório crônico e reação tecidual de corpo estranho foi encontrada no local do implante de PMMA. Macrófagos com vacúolos intracelulares e fibrose foram encontrados com menos frequência.

ABSTRACT

Gastroesophageal Reflux Diseases (GERD) has the highest prevalence at the upper gastrointestinal tract and affects between 5 and 45% of the Western populations.

Treatment includes diet, behaviors modifications and drugs or surgery. Both are efficient but have high financial costs. Treatment with drugs may not have high patient adherence and surgery presents low but still considerable morbidity and mortality. The ideal GERD treatment should be efficient with low cost.

Objectives: 1. To develop an experimental model in swines to study GERD through the Gastric Yield Pressure (GYP) and Volume (GYV); 2. To estimate the efficacy of endoscopic implant of polymethylmetacrilate (PMMA) at the lower esophageal sphincter (LES) to raise the LES basal pressure, the GYP and the GYV; 3. Report the histological findings associated to PMMA implant.

Material and Methods: Large White swine breed, females, 8 weeks old were studied under anesthesia. LES manometry with water perfusion catheter in “pull through” technique and LES basal pressure were obtained. Also, LES length was calculated. Immediately after, a percutaneous gastrostomy was performed and the distal end of a three way Foley catheter located in the stomach. A pHmetry catheter was, also, located by mouth with its distal sensor 5 cm above the LES. Continuous infusion of a HCl solution (0,02 N) into the stomach was started and measurement of intragastric pressure and volume as well as esophageal pHmetry obtained. GYP and GYV were defined when a brisk and sustained distal esophageal pH felt below 3. Following a metallic tube (Introduction Tube or IT) was introduced by mouth and after, the endoscope was introduced, and both reach the distal esophagus. A large catheter nylon with needle

(16G) was advanced through the IT and PMMA implanted in the submucosa corresponding to the LES, with dosing pistol that delivered fixed volume at 3 or 4 sites (0,73 ml at each site). A new gastrostomy, GYP, GYV and Basal LES were obtained 28 days after. The animals were sacrificed and their esophagi and stomachs removed and studied by microscopic.

Previously to the experiment, three pilot projects were developed. The first, called “Pilot Project: Gastroesophageal Reflux by 24H pHmetry” registered esophageal 24 h phmetry transnasally. The second, called “Pilot Project: Esophagostomy” used IM/IV anesthesia with tiletamine 125mg and zolazepam 125mg associated to the sedative xylazine 2% and registering a 24H pHmetry to reproduce spontaneous gastroesophageal reflux at our laboratory as described (Kadiramanathan et al.) but we did not reach success. Therefore, a third project called “Pilot Project: Gastrostomy” was launched to develop an experimental model to study gastroesophageal reflux through a percutaneous gastrostomy and measurement of GYP but short duration of esophageal pHmetry by mouth. Success and reproducibility of findings was reached

Results: Thirty seven animals were studied by sixty interventions at the Experimental Motility Laboratory. The Pilot Project “GERD:24H” was given up after death of five animals during the anesthesia and infection of subcutaneous cellular tissues nasal in other 5 animals. The “Project Pilot: Esophagostomy” in five animals (Two studies per animal in two different occasion) did not reproduce spontaneous reflux findings published previously. At the third project “Pilot Project: Gastrostomy”, four animals were studied at two different days each and induction of reflux with reproducibility of findings. Once the experimental model was attained fourteen swines were submitted to the experiment with PMMA endoscopic implant and the following results:

Mean body weight = 14,98 Kg \pm 2,43 (day 1or, before implant) and 20,26 \pm 3,68 Kg (day 28 , after implant).

The mean GYP was 8,08 mmHg (day 1) and 10,69 mmHg (day 28)with p = 0,017 by Student’s t test with t = 2,72 and d.f. = 13.

The mean GYV was 392,86 ml (day 1) and 996,71 ml (day 28) with p < 0,001 by Student’s t test with t = 11,66 and d.f.=13.

The LES basal pressure and length did not present statistic difference between day 1 and 28.

PMMA was identified at the microscopic examination of the gastroesophageal junction with presence of histiocytes, plasma cells associated to Langhans giant cells (suggesting foreign body reaction) in all animals. Fibrosis and macrophages with intracellular implant vacuoles had lower frequencies.

Conclusions: 1. The experimental model developed permitted the GERD study through GYP, GYV and LES basal pressure; 2. PMMA implant, at the present study, raised the GYP and GYV but neither the LES Basal Pressure nor its length; 3. PMMA deposits were identified in the interstitial space and chronic inflammation with foreign reaction was found in all animals. Fibrosis and macrophages with intracellular implant vacuoles had lower frequencies.

1. INTRODUÇÃO

O Refluxo Gastroesofágico é condição com alta prevalência no trato gastrointestinal e pode originar a Doença de Refluxo Gastroesofágico (DRGE). A prevalência dessa doença na população ocidental varia entre 5 e 45%. A DRGE pode alterar a qualidade de vida na maioria dos indivíduos afetados mas a procura de auxílio médico é, limitado pois prática de auto-tratamento é comum. A associação entre DRGE e adenocarcinoma esofágico também tem sido estabelecida por estudos epidemiológicos.

A terapêutica atual para essa doença inclui medidas comportamentais aliadas à utilização de fármacos com eficaz controle dos sintomas na maioria dos indivíduos. Entretanto, tratamentos farmacológicos têm baixa aderência e considerável custo financeiro. Os métodos cirúrgicos também podem ser eficazes mas há definidos riscos operatórios e considerável custo financeiro. Idealmente o tratamento da DRGE deveria ser eficaz, com baixo risco e com baixo custo.

O tratamento endoscópico para a DRGE pode melhorar a “barreira anti-refluxo” na junção esofagogástrica e, recentemente, tem sido estudado com o desenvolvimento de várias técnicas endoscópicas. Uma dessas técnicas consiste no implante, através de endoscopia, de uma substância inerte ao nível do esfíncter esofágico inferior (EEI).

O polimetilmetacrilato (PMMA) é um composto de microesferas de PMMA em suspensão em meio colóide largamente utilizado em medicina como cimento ósseo, dentaduras e lentes artificiais oculares e vem sendo cada vez mais utilizado em cirurgia plástica para preenchimento cutâneo em procedimentos estéticos com baixo custo. A sua eficácia em melhorar a “barreira anti-refluxo” é, teoricamente, promissora.

Os objetivos desta tese são: 1 Desenvolver um modelo experimental em suínos para o estudo do Refluxo Gastroesofágico através da Pressão e do Volume de Vazão Gástricos; 2. Avaliar a eficácia do implante endoscópico de PMMA ao nível do esfíncter esofágico inferior para aumentar a Pressão de Vazão Gástrica, o Volume de Vazão Gástrico e a Pressão Basal do EEI; 3. Descrever as modificações histológicas após o implante esofágico do PMMA.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO

Vários trabalhos têm demonstrado a alta prevalência da DRGE na população ocidental (39, 105). Os dados estatísticos na literatura provavelmente são subestimados porque muitos indivíduos com sintomas não procuram auxílio médico (113). Nebel et al.(90) foram os primeiros a verificar sua prevalência na população, constatando que, entre 335 funcionários que trabalhavam em hospitais nos Estados Unidos, 7% apresentavam pirose pelo menos uma vez ao dia e 15% manifestavam tal sintoma pelo menos uma vez ao mês. Um levantamento realizado pelo Instituto Gallup nos Estados Unidos em 1968, constatou que 25% dos adultos interrogados aleatoriamente apresentaram pirose pelo menos uma vez no mês que antecedeu o questionário (2). Na Suécia, em 1991, uma pesquisa foi realizada enviando-se pelo correio um questionário à população. Dos 377 adultos selecionados aleatoriamente, 21% apresentavam pirose (103). Uma revisão bibliográfica a respeito da prevalência da DRGE concluiu que a incidência de esofagite é maior do que 1% e sua prevalência é cerca de 5%. Entre 10 e 20% da população adulta tiveram ou têm sintomas de refluxo (98). Mulheres idosas parecem ter mais sintomas que os idosos mas estes têm mais esofagite e com maior gravidade do que a encontrada em mulheres idosas (98).

A DRGE tem aumentado progressivamente no mundo ocidental e vários estudos recentes têm demonstrado um crescimento inclusive na Ásia aonde se encontra uma prevalência da doença menor do que no mundo ocidental (44). No Japão a prevalência de esofagite de refluxo é de aproximadamente 15%, sendo a maioria grau A ou B pela classificação de Los Angeles e a prevalência de esofagites mais graves parece ser mais freqüente em mulheres idosas (34). Na China a prevalência também é menor do que na população Ocidental, mas descreve-se um importante impacto em estudos sócio-econômicos populacionais (136). Moss et al. (85) questionam por que a prevalência da DRGE continua aumentando. Indagam ainda se seria unicamente pelo aumento do peso corporal no mundo desenvolvido ou “se os estômagos estariam produzindo mais ácido”. Especulam que talvez os fatores defensivos da mucosa esofágica estejam menos adaptados do que no passado ou ainda que os conservantes utilizados nos alimentos consumidos atualmente, finalmente estariam mostrando o seu impacto biológico negativo. O progressivo aumento da DRGE no mundo ocidental desenvolvido, nos últimos 50 anos, apresenta um interessante paralelo com o aumento da obesidade e da vida sedentária nessa população necessitando, entretanto, de mais investigação para a sua confirmação (85).

A gravidade da DRGE com aumento dos sintomas e do grau de esofagite parece aumentar com a idade (98). Em 1997, estudo realizado em Omsted County, Minnesota, USA, verificou que 19,8% dos indivíduos que responderam a um questionário enviado pelo correio (total de questionários enviados foi de 2200 com 1511 respondentes) apresentavam pirose e/ou regurgitação. Esses sintomas apresentaram uma associação significativa com dor torácica, disfagia, dispepsia e sensação de *globus*. A porcentagem de pacientes que citaram complicações foi baixa, porém os números absolutos foram consideráveis devida à alta prevalência da DRGE naquela comunidade (69).

O impacto dos sintomas da DRGE na qualidade de vida dos indivíduos vem obtendo importância significativa nos estudos realizados. Enck et al., em 1999, avaliando sintomas do trato digestivo alto na qualidade de vida, concluíram que esses levavam a um prejuízo significativo no dia-a-dia do indivíduo (22). No Canadá, como parte de um estudo amplo internacional: *DIGEST – Domestic/ International Gastroenterology Surveillance Study*, estudou-se a prevalência dos sintomas do trato digestivo alto entre a população geral e seu impacto psicossocial e econômico. Os autores concluíram que esses sintomas apresentam alta prevalência nessa população e afetam substancialmente a qualidade de vida (124). Em 1999, Valle et al., na Itália, tiveram como objetivo avaliar a prevalência e gravidade de sintomas digestivos de DRGE. Chegaram à conclusão de que sintomas típicos dessa doença são freqüentes mas geralmente em graus leve e moderado (131)

No Brasil, os dados epidemiológicos são escassos. No “site” da Federação Brasileira de Gastroenterologia (FBG) encontram-se dados referentes a uma pesquisa realizada pela DATAFOLHA e Departamento de Gastroenterologia da USP (Universidade de São Paulo) com apoio do Laboratório AstraZeneca e FBG com 2500 indivíduos aonde 66% tinham azia, sendo que 26% dos entrevistados apresentavam azia até a garganta. Desses, metade apresentava sintoma pelo menos 1 vez por semana (1). No Rio Grande do Sul foi realizado um estudo de prevalência de DRGE na comunidade da cidade de Porto Alegre com 818 pessoas entrevistadas em 2 hipermercados da periferia da cidade. Desses, 22,5% apresentavam pirose/regurgitação ao menos semanalmente e 42,9% referiam ter, pelo menos, um episódio mensal de pirose/regurgitação (96). Os resultados desse estudo não devem ser extrapolados para a população geral, pois apresentam viés de seleção da amostragem analisada: a maior taxa de mulheres, o menor grau de escolaridade e renda familiar podem ter influenciado nos resultados.

Também no Rio Grande do Sul, em 2001, realizou-se um inquérito epidemiológico na cidade de Pelotas, a fim de se estimar a prevalência de pirose na população estudada. Um total de 1263 pessoas foram incluídas no estudo. As taxas de prevalência de pirose foram de 48,2%, 32,2% e 18,2% para o último ano, mês e semana, respectivamente (88).

Refluxo gastroesofágico em pequenos volumes (um a quatro episódios em uma hora durante as primeiras 3 horas após as refeições) ocorre na população em geral sendo considerado fisiológico (36). O refluxo freqüente ou mais volumoso resulta na DRGE (51, 56). A DRGE é resultado de múltiplos fatores incluindo-se a diminuição de fatores defensivos (“barreira anti-refluxo” e clareamento esofágico) e/ou aumento de fatores agressivos (volume do material refluído e a natureza do mesmo) (14, 54).

A “barreira anti-refluxo” na junção esofagogástrica é um complexo anatômico-funcional que representa a somatória da pressão intrínseca do esfíncter esofágico inferior (EEI), da compressão extrínseca do EEI pelo diafragma crural, da pressão positiva exercida no EEI intra-abdominal, da integridade do ligamento frenoesofágico e também da manutenção do ângulo agudo de His (14, 107).

Entretanto, a fisiopatologia dessa doença ainda é controversa. O mecanismo mais relacionado à ineficácia da “barreira anti-refluxo” parece ser a presença de relaxamentos transitórios do EEI (RtEEI) sem alterações sustentadas no mesmo. Define-se RtEEI quando existe um decréscimo abrupto na pressão do EEI não originada por uma deglutição ou peristalse secundária. Esses relaxamentos são normalmente mais longos do que os relaxamentos precedidos de deglutição sendo acompanhados pela inibição do diafragma crural (79). Recentemente foi demonstrado que o relaxamento transitório do EEI também pode apresentar ainda maior impacto na presença de hérnia hiatal (85). Outro mecanismo recentemente discutido refere-se à exposição do esôfago distal à acentuada acidez do suco gástrico na cárdia, provavelmente, levando a um aumento de pirose nos períodos pós-prandiais. Esperar-se-ia que o conteúdo da refeição tamponasse o ácido no período pós-prandial, mas foi comprovado que uma quantidade de ácido não tamponado permanece na junção esofagogástrica, considerado um *microenvironment* e que, pela maior freqüência de RtEEI nesse período, facilitaria o refluxo para o esôfago distal (30). Muitas perguntas ainda permanecem em aberto. Outro importante ponto que tem sido investigado é a associação com o *Helicobacter pylori*. O efeito risco-benefício da erradicação dessa bactéria ainda é

controverso, mas sabe-se que a prevalência de infecção por *Helicobacter pylori* em pacientes com DRGE é menor do que em pacientes sem DRGE (101).

A importância do óxido nítrico na regulação da peristalse esofágica e do relaxamento do EEI foi intensamente documentado em gatos, cães e gambás, mas os mecanismos e neurotransmissores envolvidos no controle do relaxamento do EEI em seres humanos, incluindo o RtEEI e peristalse esofágica ainda são pouco conhecidos. A distensão gástrica causada tanto por refeições como por insuflação de um balão ou distensão gasosa é um potente gatilho para o RtEEI (40). A manometria esofágica ambulatorial tem uma duração muito curta para reconhecer o RtEEI, sendo necessário uma monitorização prolongada da função motora esofágica durante a insuflação de ar ou ingestão de uma refeição teste para analisar o RtEEI (10).

O gradiente de pressão entre o estômago e o esôfago assim como a habilidade do EEI funcionar como uma barreira a despeito do aumento de pressão intragástrica têm sido estudados. O conceito de Pressão de Vazão Gástrica é remanescente do teste de provocação de refluxo durante o estudo radiográfico. Este teste tem um potencial alto quando utilizado em experimentos em animais mas não foi desenvolvido em estudos com seres humanos. Estudos adicionais devem ser realizados para a possível aplicabilidade clínica da Pressão de Vazão (10).

Outro mecanismo é a ocorrência da disfunção do EEI eventualmente associada à presença de hérnia hiatal deslizante e, finalmente, a presença de franca hipotensão do esfíncter esofágico inferior sem alterações anatômicas propriamente ditas (14). Sabe-se que, para a ocorrência de refluxo, a pressão basal do EEI deve atingir valores inferiores à 6 mmHg (107).

O segundo mecanismo mais importante relacionado à DRGE é o deficiente clareamento esofágico dependente da peristalse esofágica, da força da gravidade e do conteúdo de bicarbonato na saliva cujo pH é geralmente superior a 6. Esses fatores normalmente permitem a neutralização do conteúdo gástrico refluído para o esôfago e estimulam a sua devolução para a câmara gástrica (107). Este clareamento apresenta duas fases: uma em que o volume é rapidamente eliminado através de várias contrações esofágicas peristálticas enquanto que a segunda, mais lenta, consiste na neutralização química pela saliva ajudada por várias deglutições e conseqüentemente por ondas peristálticas oriundas. Vicente e Tovar demonstraram em estudo realizado em suínos, que o refluxo altera moderadamente a

resposta peristáltica ao ácido enquanto que o refluxo associado a esofagite altera severamente o clareamento esofágico do ácido refluído (132).

A exposição crônica e prolongada da mucosa esofágica ao conteúdo ácido gástrico refluído pode ocasionar lesão conhecida como esofagite erosiva. Sabe-se no entanto que cerca de 70% dos pacientes com sintomas típicos de DRGE não apresentam erosões à endoscopia digestiva alta (75). A inflamação da mucosa esofágica pode ser classificada tanto do ponto de vista macroscópico quanto microscópico. Histologicamente, a esofagite leve é caracterizada por, mudanças epiteliais reativas que incluem hiperplasia da camada basal, aumento da altura e congestão das papilas e ausência ou mínima infiltração de células inflamatórias. Já a esofagite acentuada caracteriza-se por lesão epitelial com erosões e ulcerações e infiltração da mucosa por neutrófilos, eosinófilos e linfócitos que, na maioria das vezes, estão confinados somente à mucosa esofágica, lâmina própria e *muscularis mucosae*. Macroscopicamente as erosões podem ser isoladas ou, quando em maior número, podem estar esparsas ou confluentes chegando até a ulcerações e/ou estenoses nos casos mais graves da doença (54, 59).

A presença de adenocarcinoma esofágico como consequência da DRGE também tem sido estudada. Na Suécia, em um estudo epidemiológico realizado entre 1995 e 1997, estabeleceu-se uma definida associação entre história de pirose (particularmente a pirose noturna), e/ou regurgitação alimentar e presença de adenocarcinoma esofágico distal e da cárdia. Nesse estudo houve uma forte associação entre o número de episódios de pirose, a gravidade e a presença de refluxo noturno (62).

Não se pode deixar de destacar o fator cada vez mais investigado e correlacionado com a gravidade da DRGE e a carcinogênese esofágica: o refluxo de conteúdo duodenal que pode ser denominado como refluxo duodenogastroesofágico (RDGE). Alguns trabalhos têm demonstrado a correlação entre o refluxo duodenal e o desenvolvimento de Esôfago de Barrett e de adenocarcinoma esofágico. Um dos mecanismos propostos é baseado na reação dos sais biliares com nitritos com produção de compostos amido-N-nitrosos carcinogênicos. Um artigo publicado em 2000 por Fein et al., demonstraram que o suco duodenal é citotóxico mas não genotóxico. A tumorogênese do adenocarcinoma esofágico em modelo de ratos não pode ser ligada a um carcinógeno específico incluindo os sais biliares e seus derivados nitrosos. A inflamação crônica parece ser o mecanismo facilitador para a carcinogênese no RDGE (25). Vaezi e Richter demonstraram que tanto o conteúdo ácido quanto o duodenal têm um

aumento gradual no espectro da gravidade quando se observa o espectro da DRGE, ocorrendo simultaneamente na maioria dos episódios de refluxo (129). Menges et al., também demonstraram que tanto o ácido refluído quanto a bile tinham um papel importante no desenvolvimento da metaplasia (83). Especula-se que possa existir uma diferença entre o Esôfago de Barrett longo e curto no que diz respeito à intensidade do RDGE (99). Entretanto, as controvérsias permanecem, sendo necessários estudos adicionais.

Os sintomas mais comumente associados à DRGE são pirose e regurgitação, mas outros também podem estar presentes, incluindo-se sintomas esofágicos propriamente ditos (disfagia, odinofagia, dor torácica e eructação) até sintomas atípicos ou extra esofágicos como tosse crônica, rouquidão, disfonia (decorrente de laringite crônica), sensação de corpo estranho (*globus*) na garganta, halitose, otalgia, anormalidades no paladar e desgaste do esmalte dentário. Algumas alterações otorrinolaringológicas estão, com certa frequência, associadas ao refluxo, como: granulomas de corda vocal, estenose laríngea e traqueal. A relação entre refluxo e asma tem sido cada vez mais documentada (122).

Para o diagnóstico de DRGE a endoscopia digestiva alta pode detectar a presença de esofagite em seus diferentes graus e inclusive a suspeita de Esôfago de Barrett (que deve ser confirmada ou excluída somente pela análise histológica e presença de metaplasia intestinal com células calciformes por biópsias endoscópicas), com potencial evolutivo para carcinoma. O exame endoscópico é indicado inicialmente em indivíduos com sintomas crônicos, isto é, persistentes por 3 anos ou mais, em pessoas com mais de 40 anos de idade e, particularmente em homens caucasianos que têm maior risco para o desenvolvimento de Esôfago de Barrett (16). Contudo a endoscopia tem baixa sensibilidade e pode revelar-se normal na maioria dos indivíduos com sintomas de refluxo principalmente nos indivíduos com sintomas extra-esofágicos (21, 63). Em junho de 2000 foi realizado o I Consenso Brasileiro da Doença do Refluxo Gastroesofágico (CBDRGE) sob o patrocínio do Departamento de Gastroenterologia da Universidade de São Paulo (84). Baseado neste Consenso, a endoscopia é indicada em indivíduos acima de 40 anos, com sintomas presentes 2 ou mais vezes por semana, persistentes por mais de 4 a 8 semanas, ou, ainda, em indivíduos com manifestações de “alarme” (disfagia, odinofagia, anemia, hemorragia digestiva, emagrecimento) ou manifestações atípicas (*globus histericus*, asma, tosse crônica, hemoptise, bronquite, bronquiectasia, pneumonias de repetição, aftas, desgaste do esmalte dentário, pigarro, sinusite crônica, dor torácica entre outras). O I CBDRGE ainda recomenda que, mesmo em indivíduos

mais jovens ou com sintomas típicos ocasionais, a endoscopia deva ser realizada para o estabelecimento *ab initio* do diagnóstico diferencial com outras afecções (úlceras pépticas, gastrite, neoplasia).

A pHmetria esofágica prolongada ambulatorial é indicada para a confirmação de DRGE nos casos em que a endoscopia não revela alterações na mucosa esofágica, principalmente, nos indivíduos com sintomas atípicos como dor torácica, asma, tosse crônica ou disfonia (16). Além disto, esse exame tem papel na avaliação da terapêutica da DRGE e adequação da dose do medicamento quando o paciente mantém-se com sintomas mesmo na vigência do tratamento (17).

Para o refluxo alcalino foi desenvolvido o Bilitec®. Trata-se de um aparelho portátil, registrador espectrofotométrico de 24 horas, desenvolvido para analisar a presença de bilirrubina no esôfago. O resultado do exame expressa o valor da absorvência da bilirrubina em função do tempo. A utilização concomitante de pHmetria e Bilitec® na avaliação da DRGE é recomendada por alguns autores (99, 121, 134).

O I CDRGE divide a abordagem terapêutica em medidas comportamentais e farmacológicas, que devem ser implantadas, concomitantemente, em todas as fases da doença. Os inibidores da bomba de prótons são as drogas de escolha pela sua alta eficácia com taxas de cicatrização de esofagites chegando a 80% em 4 semanas, significativamente maior do que com quaisquer outros medicamentos (85). Esses medicamentos atuam através de uma ligação covalente com resíduos da cisteína na bomba de prótons (H^+ / K^+ ATPase) na membrana dos canalículos secretores das células parietais (85). Todos os inibidores da bomba de prótons parecem ser eficazes mas quando comparado com os outros inibidores da bomba de prótons, o esomeprazole parece ser o mais rápido e consistente no alívio de sintomas (18, 55). A diferença entre cada um dos inibidores disponíveis está na sua estrutura molecular resultando em ligações com diferentes resíduos de cisteína. Não obstante, inibidores da bomba de prótons têm importantes limitações, uma vez que eles não restituem a “barreira anti-refluxo”, portanto, não abordando outros aspectos da patogênese da DRGE. Por exemplo, pode-se citar que os inibidores não eliminam o componente “não ácido” do conteúdo gástrico refluído que tem sido apontado como importante fator tanto no controle sintomático quanto na carcinogênese esofágica (25). Sendo a DRGE comum, o seu diagnóstico e tratamento a longo prazo eleva consideravelmente a demanda orçamentária dos serviços de saúde justificando-se a procura de terapêuticas alternativas para essa doença (35).

Há trabalhos comprovando a segurança e efetividade do uso de inibidores da bomba de prótons (IBP) por períodos superiores a 11 anos de tratamento, não sendo observadas alterações significativas no corpo gástrico ou outros para-efeitos nos pacientes (58). Entretanto, existem evidências de que, em indivíduos portadores de *Helicobacter pylori*, esses fármacos possam produzir aumento na concentração dos nitritos intra-gástricos e da vitamina C na presença de colonização bacteriana no estômago, facilitando a *n-nitrosation* bacteriana, com aumento no risco da mutagênese e da carcinogênese (86).

A partir do momento que estudos têm demonstrado o RDGE na fisiopatologia dessa doença, alguns autores tentam demonstrar que a cirurgia seria a melhor terapêutica no intuito de cessar tanto o refluxo ácido quanto o refluxo alcalino.

A intervenção cirúrgica para sintomas crônicos de refluxo gastroesofágico tem apresentado resultados bons quando a cirurgia é realizada por profissionais experientes. Contudo, questiona-se se os resultados podem ser extrapolados para a prática diária na maioria dos centros médicos (85). A funduplicatura laparoscópica para a DRGE tem sido proposta como uma alternativa terapêutica aos inibidores da bomba de prótons, principalmente em pacientes jovens, buscando-se a “cura” da doença, eliminando-se o uso de medicamentos e prevenindo-se suas complicações. Entretanto, não existem evidências convincentes de que o tratamento cirúrgico apresente maior benefício em relação ao custo quando comparado com o tratamento medicamentoso em até 10 anos de acompanhamento (35). A funduplicatura laparoscópica apresenta risco de mortalidade e morbidade peri-operatória, além de elevado custo. A mortalidade desse procedimento é aproximadamente 1% o que pode ser considerado elevado para uma doença que, a princípio, não causa risco de vida (35). Também não existem evidências sólidas de que a cirurgia reduza o risco de adenocarcinoma relacionado à DRGE. Cita-se ainda que pacientes submetidos à cirurgia necessitaram freqüentemente de reiniciar tratamento medicamentoso posterior as suas cirurgias para controle de sintomas recorrentes (35). Tratamentos cirúrgicos menos invasivos e técnicas endoscópicas poderão ser opção para os pacientes que não podem ou não querem utilizar medicamentos a longo prazo (41, 72).

2.2 IMPLANTES E/OU OUTRAS MANIPULAÇÕES ENDOSCÓPICAS NO ESÔFAGO PODEM CONTROLAR O REFLUXO GASTROESOFÁGICO?

A prótese cirúrgica de Angelchik (uma prótese plástica em forma de ferradura colocada no esôfago distal), mantém o controle do refluxo mas apresenta desvantagens como a necessidade de cirurgia para a sua colocação e o seu deslocamento relativamente fácil (11, 91). As complicações da utilização dessa prótese são a disfagia, migração da prótese e/ou erosão e ruptura da prótese. Nesses casos há a necessidade de remoção por via cirúrgica (laparotomia ou laparoscopia) (127).

Carugno et al. (15) desenvolveram uma prótese distinta da descrita por Angelchik que permitia a insuflação ou desinsuflação da mesma. Essa pesquisa foi desenvolvida em suínos sendo que a manipulação da prótese se fez através de um catéter localizado no tecido celular subcutâneo, requerendo laparoscopia para a instalação da prótese.

2.2.1 ESTUDOS EXPERIMENTAIS

2.2.1.1 Modelos Experimentais

Quando se considera estudos experimentais, inicialmente, deve-se ter em mente a necessidade de reprodução laboratorial da doença a ser pesquisada. É interessante citar alguns modelos de indução do refluxo. Um pesquisador que muito contribuiu com a investigação de modelos animais para a indução de refluxo foi Pera. Esse autor criou dois modelos em ratos, utilizando nos dois casos, técnicas cirúrgicas: a primeira, através de uma esofagogastroplastia, induzindo um modelo de refluxo gastroesofágico. A realização de uma esofagojejunoostomia preservando-se o estômago criou o segundo modelo experimental aonde o líquido refluído para o esôfago apresentava conteúdo duodenal (94, 95). Tais técnicas foram repetidas por outros pesquisadores com sucesso na utilização desses modelos inclusive no nosso meio (7, 82).

Donahue et al. (21) em 1990 induziram o refluxo gastroesofágico em cães através da injeção intravenosa de atropina o que levava a uma diminuição da pressão do EEI em 75% do valor normal basal. Heij et al. (38) em 1991 utilizaram, pela primeira vez como animal de experimentação o suíno, induzindo o refluxo através de gastrostomia. O mecanismo pelo qual o refluxo se instalaria ainda não é bem conhecido, acreditando-se que ocorra pela alteração do

ângulo de His. O controle do refluxo nesse trabalho foi conseguido através de uma técnica cirúrgica, a gastropexia anterior. Korn et al. (61) realizaram um modelo experimental mecânico de esfíncter gastroesofágico *ex vivo*. O esôfago de suínos foi dissecado e foi utilizado o segmento da junção gastroesofágica. Este modelo foi criado para evidenciar o arranjo das fibras musculares ao nível do esfíncter esofágico inferior. Em 1997, Schopf et al. (111) estudaram um modelo animal em suínos para obtenção de refluxo gastroesofágico. Foi realizada uma miotomia nas fibras musculares oblíquas da junção esofagogástrica dos suínos que se distribuem de modo muito semelhante à encontrada em seres humanos. Com este experimento, foi possível a criação de um modelo experimental de refluxo nesses animais, facilmente reproduzível.

Lanas et al. em 1999 (64), utilizando coelhos, induziram esofagite péptica através da colocação cirúrgica de um tubo plástico no esôfago cervical dos animais, perfundindo então o órgão, intermitentemente, com pepsina acidificada. Este experimento obteve sucesso na indução de esofagite.

Kadirkamanathan et al. (53) em 1999, desenvolveram também um modelo animal em suínos para o estudo da DRGE. Os animais tinham um peso corporal e tamanho maior do que os utilizados nos trabalhos anteriores. O protocolo inicial do experimento previa a realização de cirurgia no esfíncter esofágico inferior (cardioplastia) para a produção de refluxo patológico nos animais porém, surpreendentemente, durante a monitorização do pH intraesofágico por 24 horas com uma cápsula pHmétrica implantada no esôfago distal em 6 suínos, observou-se a presença de refluxo ácido prolongado “espontâneo”. Abriu-se, portanto uma interessante oportunidade para pesquisa nesse modelo animal (vide Anexo I).

Mais recentemente foi desenvolvido outro modelo animal utilizando-se suínos nos quais se induziu o refluxo através da injeção de toxina botulínica no segmento correspondente ao esfíncter esofágico inferior. Esta toxina interage seletivamente com neurônios colinérgicos inibindo a liberação de acetilcolina nos terminais pré-sinápticos e, com isto, aumentando a influência dos neurotransmissores inibitórios (128).

2.2.1.2 Modelo Experimental para Avaliação da Pressão Intragástrica

No estudo do refluxo gastroesofágico algumas perguntas ainda permanecem sem respostas. No intuito de pesquisar a resposta da pressão do EEI ao aumento das pressões intra-abdominal e intragástrica, algumas pesquisas foram realizadas em modelos animais. Um

artigo publicado em 1987 desenvolveu um modelo em gatos, avaliando a pressão gástrica e do EEI durante compressão extrínseca abdominal e durante a distensão de um balão intragástrico colocado através de uma duodenostomia e concluiu que a pressão do EEI se mantinha durante a compressão abdominal mas diminuía durante a distensão intragástrica (12).

Franzi et al. realizaram um modelo animal em cães para estudar qual região do estômago é responsável pelo RtEEI desencadeado pela distensão gástrica chegando à conclusão de que a região subcárdica do estômago é responsável pelo gatilho do RtEEI (33).

A pressão intragástrica foi analisada em peças anatômicas de estômago e esôfago de suínos obtidas em um abatedouro com o objetivo de estudar melhor o tipo de funduplicatura. Após a realização de funduplicatura nessas peças, o estômago foi insuflado com água que continha corante, a pressão do estômago foi medida com um cateter de manometria e a do EEI com outro, sendo o refluxo detectado pela visualização do corante no esôfago distal através do endoscópio (135).

2.2.1.3 Intervenções Endoscópicas para o Controle do Refluxo Gastroesofágico

Em 1984, O'Connor et al. (92) realizaram um trabalho experimental em cães aonde estudaram a cirurgia prévia para tornar o esfíncter esofágico inferior incompetente seguida por uma técnica endoscópica de injeção de Teflon® e de colágeno bovino para reverter o refluxo induzido. Esses grupos foram controlados quanto à quantidade de refluxo através de medidas de corantes refluídos do estômago. No final os cães foram mortos e realizou-se avaliação anátomo-patológica para verificação do material implantado e da presença ou não de esofagite. Houve uma série de dificuldades no trabalho com Teflon® incluindo-se a migração intravascular do material. O colágeno pareceu ser a melhor substância para uso. Todos os animais tiveram redução da esofagite mas não houve análise estatística, não se podendo aferir se os resultados obtidos foram significativos ou não.

Donahue et al. em 1995 (21), utilizando o modelo experimental em cães citado acima, realizaram esclerose endoscópica com *sodium morrhuate* ao nível da cárdia gástrica, em sua submucosa e obtiveram resultados satisfatórios na prevenção do refluxo induzido por atropina.

Em 1997, realizou-se valvuloplastia endoscópica em 13 babuíns que consistiu em uma intussuscepção da junção esofagogástrica no estômago para criar uma nova válvula. A competência desta nova válvula foi determinada através da pressão e volume necessários para

resultar na equalização da pressão gástrica e esofágica quando se distende o estômago com água: “*common cavity phenomenon*”. Os resultados foram comparados com um grupo controle de babuínos normais (n=10). O grupo de pesquisadores concluiu que a valvuloplastia foi um procedimento simples e fácil de ser realizado além de ser durável, oferecendo um aumento mecânico funcional da região da cárdia, aumentando a competência (77).

No estudo desenvolvido por Kadiramanathan et al. (53), já citado anteriormente, aonde o modelo animal utilizado foi o suíno, analisou-se a eficácia da gastroplastia endoscópica em reduzir a exposição ácida nesse modelo. A pHmetria esofágica ambulatorial foi realizada através da implantação de uma cápsula, com sensor ao ácido ligado a um sistema telemétrico, no esôfago, 5 cm acima do EEI, após localização manométrica. A gastroplastia endoscópica foi bem sucedida no controle do refluxo nesses animais. Esse grupo de Londres tem aprimorado a técnica de sutura endoscópica com a elaboração de equipamentos de sutura e incisão endoscópicas e a sua utilização em seres humanos (52, 118-120).

A liberação endoscópica de energia de alta frequência na junção esofagogástrica foi avaliada no modelo animal utilizado por Utley et al. (128) observando-se o efeito na pressão do EEI e na pressão gástrica produzida, bem como nas alterações histológicas resultantes, após a indução do refluxo através da injeção de toxina botulínica no EEI como já citado anteriormente. Houve reversão dos efeitos da toxina, bem como aumento da pressão gástrica em cerca de 75% comparando-se com os controles. Histologicamente, o estudo demonstrou mucosa normal, fibrose leve e ausência de inflamação.

Utilizando a sutura endoscópica como método endoscópico terapêutico, um estudo foi desenvolvido em babuínos para avaliar a eficácia do método. Dois tipos de sutura foram realizados: linear e circular logo abaixo do EEI. Foram utilizados para avaliação: manometria, fluoroscopia com deglutição de bário, endoscopia digestiva alta, e um teste de pressão e volume intragástricos. Concluiu-se, após avaliação dos animais durante 6 meses, que parâmetros manométricos associados com a DRGE foram melhorados com a sutura endoscópica, com poucas complicações na realização desse método (76).

O aumento da cárdia com um polímero biocompatível injetável (Enteryx®) foi testado em suínos (12 mini porcos da raça Yucatan). Quatro grupos de 3 animais cada foram estudados e em seguida, sacrificados 2, 6, 12 e 24 semanas após a injeção. A competência foi determinada como sendo a pressão intragástrica e o volume necessários durante a distensão gástrica com ar e água que resultassem na equalização da pressão gástrica e esofágica. Os

autores concluíram que o aumento da cárdia com o implante de Enteryx® foi simples, fácil e durável. Além disso, aqueles autores especularam se a alteração da distensibilidade e da geometria da junção esofagogástrica poderia gerar uma proteção anti-refluxo (78).

Outro método endoscópico pesquisado para o controle da DRGE foi a utilização de fragmentos da submucosa do intestino delgado implantados endoscopicamente e denominado pelos autores SIS, que funcionavam como um patamar para o aumento da pressão do EEI. Seis cães foram injetados endoscopicamente: 4 com SIS e dois com um carreador de glicerina. Os animais foram examinados com manometria a cada 4 semanas. O procedimento foi realizado adequadamente e no local correto em quatro animais. Em um animal existiu aumento significativo da pressão do EEI. Não houve mudanças na pressão do esfíncter e na espessura das camadas do esfíncter quando se comparou os resultados obtidos em 4 semanas com os obtidos em 8 semanas. Os autores concluem que SIS é um material biologicamente compatível, mas por não terem induzido refluxo gastroesofágico no modelo animal foi difícil avaliar a eficácia do SIS para o tratamento da DRGE (74).

2.2.2 ESTUDOS EM “ANIMA NOBILE”

2.2.2.1 Avaliação da Pressão de Vazão Gástrica em Seres Humanos

O estômago tem um papel importante na patogênese do refluxo gastroesofágico. Pacientes com DRGE apresentam relaxamento do EEI prolongado após ingestão alimentar. A distensão da região da cárdia é o principal gatilho do RtEEI. A dificuldade de esvaziamento gástrico e o acúmulo de alimentos na região fúndica são observados em pacientes com DRGE (40). Ismail et al. (46) verificaram a pressão de vazão da cárdia em resposta à distensão gástrica em 155 indivíduos com e sem DRGE e após funduplicatura de Nissen. A Pressão de Vazão Gástrica (PVG) foi medida por endoscopia e por manometria, sendo definida como a diferença entre a pressão de repouso do estômago e a pressão de abertura da cárdia verificada por um catéter no estômago com insuflação de ar ou líquido. A pressão média foi significativamente menor em indivíduos com DRGE do que nos indivíduos sem DRGE. Após cirurgia de Nissen bem sucedida a pressão de vazão aumentou para níveis acima dos normais. Verificou-se também uma relação entre a pressão de vazão e a presença e tamanho da hérnia de hiato e a aparência valvular da cárdia observada por endoscopia. Os autores concluíram que a pressão de vazão era útil para verificar a competência da cárdia, sendo esta influenciada

pelas estruturas anatômicas (46). Outro interessante estudo analisou o efeito da pressão intra-abdominal na pressão do esfíncter esofágico inferior em cirróticos com ascite por Navarro et al. (89) em São Paulo. Dezesesseis pacientes com ascite foram monitorados em relação à pressão do EEI e a pHmetria esofágica de 24 horas, pré e pós paracentese. Os parâmetros da pHmetria foram estatisticamente diferentes pré e pós-paracentese mas as pressões do EEI não apresentaram diferenças. Os autores comentaram que a redução em mais de 70% da pressão intra-abdominal, leva a uma redução significativa do refluxo gastroesofágico.

2.2.2.2 Tratamento Endoscópico em Seres Humanos

Em 1987, O'Connor et al. (91) realizaram a injeção endoscópica de colágeno bovino em dez pacientes que apresentavam DRGE e que não obtiveram melhora com tratamento clínico ou apresentavam risco elevado para a cirurgia ou ainda foram submetidos à cirurgia sem sucesso. A resposta clínica inicial após o implante foi favorável, havendo melhora dos sintomas. Contudo houve diminuição do volume do colágeno implantado e retorno dos sintomas, com formação de anticorpos contra o material implantado após 12 meses.

A injeção endoscópica intra-esofágica de politetrafluoretileno (Polytef®) foi testada em 1996 por Shafik (112). Vinte e um pacientes foram submetidos a esse tratamento, todos apresentavam o EEI hipotônico. Quatro a seis ml de Polytef® foram injetados na submucosa ao nível do EEI. Os indivíduos foram acompanhados entre 18 e 24 meses. Não houve complicações e os sintomas desapareceram nos 3 meses que se seguiram ao implante com a pressão do esfíncter permanecendo elevada. Aos seis meses, a pressão diminuiu em nove pacientes e desses, três voltaram a apresentar sintomas. Após um ano, a pressão do EEI estava normal em 10 indivíduos e diminuiu, significativamente, em 11 que apresentaram sintomas e necessitaram de re-implante. Aos 18 meses, a pressão voltou ao normal em todos os pacientes. Nove pacientes foram acompanhados por 2 anos sendo a pressão basal do esfíncter normal em todos e nenhum apresentava sintomas de refluxo. O autor conclui que o implante do Polytef restaura a competência do EEI através do aumento de sua pressão, sendo uma técnica simples não apresentando complicações (112).

Filipi et al. (29) realizaram um estudo multicêntrico prospectivo em 64 pacientes que foram submetidos à sutura endoscópica para tratamento da DRGE através da *Bard Interventional Endoscopic Suturing System*. Após seis meses de acompanhamento, o escore de sintomas melhorou significativamente demonstrando a eficácia do procedimento com

menor frequência e gravidade de pirose e regurgitação ($p > 0,0001$). Os autores concluíram que a gastroplastia endoscópica foi facilmente realizada e esteve associada com redução dos sintomas e uso de medicamentos durante o período de seguimento de pacientes com DRGE não complicada. Citaram apenas uma complicação da sutura em um paciente: perfuração esofágica com controle fácil através de antibioticoterapia.

Mahmood et al. (73), acompanharam 22 pacientes durante um ano após a realização de sutura endoscópica com um novo equipamento denominado Endocinch®. Pirose e regurgitação apresentaram uma redução significativa em seus escores após um ano. O escore de DeMeester também apresentou uma redução significativa após 3 meses de acompanhamento. Todos os parâmetros do questionário de qualidade de vida apresentaram uma melhora significativa e houve redução no uso de inibidores da bomba de prótons em 64% dos indivíduos após 1 ano do procedimento.

A maioria dos estudos relacionados à sutura endoscópica evidencia complicações menores desse tratamento como náuseas e vômitos. Entretanto, complicações mais severas no período do tratamento também têm sido relatadas como: hipoxia, hemorragia gastrointestinal e perfuração. Dentre as técnicas de terapêutica endoscópica a sutura parece ser a que apresenta maior dificuldade técnica, com maior tempo de execução, necessitando, portanto de monitorização ou então de anestesia geral em cerca de um terço dos pacientes (130). Também tem-se relatado deiscência da sutura a curto prazo (93).

O tratamento da DRGE utilizando-se a liberação de energia de radiofrequência (Stretta®) na junção esofagogástrica foi analisado através de um estudo multicêntrico. Quarenta e sete pacientes com sintomas clássicos de DRGE utilizando diariamente medicamentos anti-refluxo e com resposta pelo menos parcial ao tratamento foram estudados. Após a realização de pHmetria, endoscopia e manometria e de ter completado um questionário de qualidade de vida validado para DRGE (DRGE-HRQL e SF-36), os pacientes foram submetidos à radiofrequência na junção esofagogástrica levando a lesões térmicas na muscular dessa junção. Os autores obtiveram sucesso na diminuição dos sintomas e significativa melhora na qualidade de vida desses pacientes (125).

Houston et al. (45) utilizaram o Stretta®, que consiste em um aparelho de liberação de energia de radiofrequência. Os pacientes foram estudados prospectivamente, tanto pré como pós-procedimento com: manometria esofágica, pHmetria de 24 horas, questionário de qualidade de vida (SF12) e questionário específico para a DRGE. Vinte pacientes entre 31

(65%) acompanhados durante 6 meses não utilizaram mais inibidores da bomba de prótons. A única complicação citada pelos autores foi a presença de gastroparesia, 10 dias após o procedimento que regrediu espontaneamente e completamente.

A utilização da liberação de energia de radio-freqüência com temperatura controlada apresentou redução da freqüência de RtEEI em cerca de 50%, tanto em animais como em seres humanos. O mecanismo exato dessa redução permanece especulativo podendo ser causado, inclusive, pela ablação das vias neurológicas locais, responsáveis pelo RtEEI (130). Esse método terapêutico é relativamente simples de ser realizado contudo o mecanismo exato que levaria à redução de sintomas e do refluxo gastroesofágico não é conhecido, existindo um consenso de que as fibras nervosas aferentes da junção gastroesofágica podem ser afetadas por esse procedimento talvez aumentando o limiar de percepção de sintomas apesar da manutenção da exposição ácida esofágica (130).

Hogan e Shaker (43) salientaram que, após tratamento endoscópico com radiofreqüência e sutura endoscópica, em acompanhamentos a curto prazo, o refluxo ácido não foi normalizado nem tampouco a esofagite. Richards et al. (106) compararam os resultados a curto prazo do tratamento com a técnica Stretta® versus a fundoplicatura laparoscópica. Os pacientes foram randomizados para um ou outro tipo de tratamento baseado no tamanho de hérnia hiatal, pressão do EEI, esôfago de Barrett e sintomas pulmonares significativos. Os pacientes que se submeteram ao Stretta® ficaram mais satisfeitos e tiveram uma melhora dos sintomas e melhor qualidade de vida do que os que se submeteram à fundoplicatura. Foi um estudo a curto prazo, que comparou um tratamento vigente e um novo (Stretta®).

Feretis et al. (28), na Grécia, realizaram o implante endoscópico de polimetilmetacrilato (PMMA) na submucosa da região do EEI em 10 pacientes com DRGE refratários ao tratamento ou dependentes do uso de inibidores da bomba de prótons. Avaliou-se escore de gravidade de sintomas, pHmetria de 24 horas, endoscopia digestiva alta e ultrassonografia endoscópica a fim de comprovar a eficácia do método. Houve um decréscimo no escore de gravidade dos sintomas e também no tempo médio total em que o pH esteve abaixo de 4. Os autores concluíram que o implante de PMMA pode ser um novo método no tratamento da DRGE, necessitando contudo de novos estudos para a avaliação a longo prazo.

Recentemente, foi publicado um artigo aonde foi analisado o implante de Enteryx® (copolímero álcool vinil-etileno + agente de contraste radio-opaco dissolvidos em um

carreador líquido orgânico) ao nível da musculatura da cárdia. Quinze (15) pacientes que necessitavam de tratamento constante com inibidor da bomba de prótons foram estudados pré e pós-implante. A pressão do EEI aumentou significativamente após um mês do implante, havendo uma resposta sustentada durante a média de 6 meses de seguimento (4-12 meses). Houve uma redução no escore de pirose utilizado. Concluiu-se que o implante de Enteryx® não apresentou complicações, foi facilmente realizado permitindo um aumento sustentado da pressão residual do EEI e levando a uma melhora do escore de pirose em indivíduos dependentes do uso de inibidores da bomba de prótons (20).

O implante de Enteryx® foi avaliado em um estudo prospectivo, multicêntrico, mais recente. Oitenta e cinco pacientes com pirose que respondiam aos inibidores da bomba de prótons foram estudados. A eficácia do implante foi analisada 6 meses e 12 meses após o implante. Enteryx® foi implantado com acompanhamento através da fluoroscopia sem utilização de anestesia geral. O tratamento foi considerado eficaz quando a dose de inibidores da bomba de prótons foi reduzida em 50% ou mais. A avaliação pré e pós-implante incluiu: utilização de medicamentos, questionário de sintomas e qualidade de vida, endoscopia, pHmetria, manometria e documentação dos efeitos adversos. Dor retroesternal transitória foi observada e controlada com analgésicos. Os autores concluíram que a maioria dos pacientes descontinuou a terapia com IBP, apresentou melhora dos sintomas e reduziu a exposição esofágica ao ácido. Os resultados do implante foram duradouros e a morbidade foi transitória e mínima. O procedimento necessitou somente do material endoscópico básico (49, 50).

Um outro interessante estudo foi realizado para observar a precisão do implante de Enteryx® no EEI. Nove pacientes que apresentavam doença esofágica grave e seriam submetidos a esofagectomia foram submetidos ao implante de Enteryx®. Três a quatro implantes de 1 a 2 cc. foram realizados na junção escamocolunar guiados por fluoroscopia. O implante apresentou localização extra-esofágica em poucos sítios, sendo muito fácil de ser localizado na muscular do órgão (97). Existem estudos com acompanhamento do implante endoscópico de Enteryx® (polímero radiopaco biocompatível) por períodos de 6 meses e 1 ano (49, 50).

Quando a sutura endoscópica foi comparada com o implante endoscópico, Lehman et al. (66), descreveram que, aparentemente, esse último procedimento teve um custo financeiro menor e também foi mais factível. Concluíram que ambos os procedimentos ainda necessitavam de mais estudos.

Um procedimento que também está sendo desenvolvido e pesquisado pela empresa Medtronic Inc (EUA) é o implante submucoso de uma prótese com hidrogel. Foi lançado no mercado como *Gatekeeper Reflux Repair System*®. No estudo piloto realizado, a técnica mostrou-se fácil e não houve migração da prótese para o mediastino. Não há um estudo a longo prazo contudo, foi anunciado em 18 de novembro deste ano, em Minneapolis, que a Medtronic Inc irá iniciar um estudo clínico com o *Gatekeeper* que incluirá 144 pacientes. Os mesmos serão avaliados após 6 e 12 meses do procedimento (3, 31, 48).

2.3 A UTILIZAÇÃO DE IMPLANTES

Um bom conhecimento dos materiais que podem ser utilizados para o implante é necessário por parte dos médicos que os utilizarão para procedimentos cirúrgicos. O implante ideal deve ser capaz de prover uma adequada correção sem migração, não deve alterar o local do implante de modo grosseiro, deve ser duradouro mas, facilmente, removível ou permitir a sua troca, devendo ser implantado com mínima morbidade e mortalidade, possuir um custo baixo, não devendo ser carcinogênico e/ou imunogênico, não devendo causar inflamação crônica ou reação de corpo estranho, e finalmente deve ser livre de agentes infecciosos (62). No momento, nenhum material de implante preenche inteiramente esses critérios mas existem opções disponíveis satisfatórias.

Os materiais de implante se dividem em *naturais* e *sintéticos*. Por sua vez os materiais de implante *naturais* são subdivididos em autólogos (provenientes do próprio paciente); aloimplantes (provenientes de outros indivíduos da mesma espécie) e xenoimplantes (provenientes de espécies diferentes).

2.3.1 A UTILIZAÇÃO DE IMPLANTES EM CIRURGIA PLÁSTICA

2.3.1.1 Implantes Naturais

A rigor, a grande gama de materiais utilizados na cirurgia plástica demonstra a inexistência de um material capaz de preencher os critérios ideais para implante em seres humanos.

Materiais como o colágeno autólogo injetável constituem importantes opções para pacientes que realizam procedimentos estéticos (62).

A gordura autóloga tem sido, também, usada como uma substância de aumento e preenchimento tecidual, na plástica, há mais de um século (9, 62, 126). O primeiro trabalho que citou esse material foi o de Neuber em 1893 utilizando pequenos fragmentos para elevar áreas de depressão; o autor verificou que a gordura quando utilizada em grande blocos de tecido não obtinha êxito (114). Entretanto, vários pontos ainda são controversos, como a técnica e o local de retirada do material e o método de estocagem. Isto leva a resultados distintos nos diferentes trabalhos. Mas, como é facilmente acessível, existe em abundância no organismo do paciente e é uma substância de utilização segura, torna-se um material muito empregado para o aumento tecidual sendo utilizada para a correção de lipoatrofia subcutânea após acne ou após traumatismos, entre outros (62).

O principal problema enfrentado pelos pesquisadores e cirurgiões plásticos que trabalham com gordura é a perda progressiva por reabsorção do material em períodos relativamente curtos (126). Basicamente, os experimentos têm sido direcionados para duas linhas de pesquisa no intuito de diminuir a perda do material implantado: aperfeiçoamento das técnicas de retirada do material e das técnicas de implante e o processo de pré-injeção da gordura (23, 24, 60).

O colágeno bovino ainda é considerado um material eficaz e duradouro como implante mas os derivados do ácido hialurônico tem-se tornado uma alternativa para o colágeno bovino.

2.3.1.2 Implantes Sintéticos

Em relação aos materiais sintéticos, esses têm a vantagem de serem manufaturados de acordo com as especificações dos seus idealizadores. O politetrafluoretileno, obtido pela extrusão de materiais conhecidos como o Teflon®, é inerte, não alergênico e exibe baixa reação tecidual com mínima formação de cápsula reacional ou fibrose. Parece ser um implante promissor mas estudos de longa duração ainda não estão disponíveis (62).

Dois estudos recentes, publicados respectivamente em 1999 e 2000, comentam a respeito do surgimento de novos materiais promissores para implante, inertes, ressaltando que ainda é muito cedo para emitir opiniões categóricas necessitando-se de estudos adicionais a respeito (5, 62). Bioplastique®, uma suspensão de partículas de borracha de silicone texturizadas em um veículo carreador, é um material em estudo para implantes, com uma resposta de corpo estranho controlada, entretanto, pela publicidade negativa em torno do

silicone, não foi aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration), o órgão fiscalizador para drogas e instrumentos do governo dos Estados Unidos da América, necessitando de maiores estudos adicionais a respeito de seu uso. Aparentemente, satisfaz o critério de não possibilitar o encapsulamento por macrófagos e não estar associado com migração (62).

O polimetilmetacrilato foi sintetizado em 1902 por um químico alemão (Röhn) e patenteado em 1928 como Plexiglass. É utilizado há mais de 50 anos em cirurgia ortopédica, cirurgia odontológica, cirurgia plástica e oftalmologia.

Lemperle et al. (68) realizaram um experimento em pele de ratos verificando as reações causadas pelo implante de PMMA dispersos em Tween 80®. O exame histológico após 7 meses revelou uma reação tecidual leve, formando uma delicada cápsula fibrosa ao redor de cada esfera. Células gigantes de corpo estranho foram raras, não havendo corrosão, quebra ou fagocitose das microesferas. Os autores citam que como produtos de PMMA têm sido utilizados por mais de 50 anos, sem causar degradação ou câncer, o material pode ser aplicado com segurança na pele humana (68).

Artecoll®, suspensão de microesferas de polimetilmetacrilato (PMMA) em uma solução de colágeno bovino, foi desenvolvido recentemente para uso estético. O PMMA pode ser combinado com solução de colágeno ou se apresentar em suspensão em meio colóide de carboxi-gliconato hidrolático de magnésio. Existem muitos trabalhos que analisam a solução de polimetilmetacrilato com colágeno, geralmente colágeno bovino, a 3,5%. McClelland et al. (80) avaliaram a sua biocompatibilidade e imunogenicidade para verificar a segurança desse produto para uso em derme chegando à conclusão de que a biocompatibilidade foi aceitável, mas estimulou resposta imune em seres humanos, apresentando susceptibilidade para sua fagocitose e gradativa eliminação. Outro estudo mais recente citou a formação de granulomas de corpo estranho com certas características próprias em 3 pacientes submetidas à correção de contorno facial (109). Um estudo alemão observou que após 3 meses do implante de PMMA, o colágeno que funcionou como veículo para a implantação subdérmica foi recolocado no tecido conectivo e as microesferas de polimetilmetacrilato (25% da solução, contra 75% de colágeno) serviram meramente como estímulo para os fibroblastos. Houve somente 3% de complicações em um total de 950 pacientes submetidos ao tratamento com essa solução e 91% dos indivíduos afirmaram, nessa publicação, que repetiriam o tratamento se necessário (68). O mesmo autor, realizou um estudo prospectivo em 118 pacientes com 200 locais de aplicação, mostrando bons resultados mesmo após 5 anos do implante (67).

Hoffmann et al. (42), comentaram que apesar das possíveis reações adversas com a utilização de solução de polimetilmetacrilato, Bioplastique® e Gore-Tex®, outro material biologicamente inerte talvez constituíssem materiais ideais para implante injetável.

Vale salientar que o polimetilmetacrilato é também utilizado como substância embólica como tratamento coadjuvante no manejo de tumores vasculares intracranianos, na mesma apresentação de microesferas, sendo que a avaliação histopatológica após esta utilização, sugere que seja um material inerte (100, 102).

O MetaCrill® é um composto de microesferas de polimetilmetacrilato em suspensão em meio colóide de carboxi-gliconato hidrolático de magnésio observando uma proporção de 30% microesferas / meio suspensor, tendo estabilidade completa em meio ambiente, não necessitando de resfriamento para a sua manutenção. Tal composto é preferencial ao Artcoll® por não apresentar reação de corpo estranho e, teoricamente, não poder migrar devido ao diâmetro das microesferas dificultando a fagocitose. Nos estudos histológicos realizados observou-se pequeno número de macrófagos com microesferas em seu interior, permanecendo, definitivamente, no local implantado. A grande diferença quanto ao Artcoll® é o meio utilizado para suspensão das microesferas, por ser totalmente mineral, sem qualquer componente protéico em sua composição. A aplicação subcutânea é considerada extremamente fácil, indolor e rápida, sendo um procedimento ambulatorial em cirurgia plástica. A injeção é realizada com seringa comum, com agulha de calibre 30, sendo que o local da punção deve distar 0,5 cm do ponto onde se pretende obter o efeito desejado e a quantidade da solução aplicada por local de punção varia de acordo com o local e o preenchimento que se deseja da área, variando de 1 até 10 ml. Os cuidados são o de evitar a formação de bolhas durante a injeção e fazer a mesma em plano subcutâneo, imediatamente abaixo da derme, nunca em sua espessura (115).

O PMMA é um composto de microesferas sólidas de superfície lisa de polimetilmetacrilato suspensas em um gel transportador classificado como hidrogel biocompatível e associado a um anestésico local. As microesferas de PMMA são produzidas de acordo com a técnica de suspensão-polimerização e apresentam diâmetros entre 34,16 e 103,35 μ , (média de 59,93 μ). A homogeneidade das esferas é muito importante porque se forem menores que 30 μ podem ser fagocitadas por macrófagos. A proporção entre microesferas e o gel veicular é de 30% para 70%, respectivamente. O veículo do PMMA é absorvido e eliminado por excreção renal, há então espaço para deposição de colágeno no

local do implante, fixando o material no local, evitando a migração. A estimulação tissular pelas microesferas se dá devido a um processo inflamatório discreto produzido por monócitos, histiócitos e fibroblastos, segundo o fabricante brasileiro (BioMedical Ind. Com. De Produtos Biomédicos Ltda – Porto Alegre) (4) .

2.3.2 IMPLANTES EM UROLOGIA E OTORRINOLARINGOLOGIA

A injeção de substâncias em áreas peri-uretrais que comprimem, dão suporte ou limitam o colo da bexiga para o tratamento da incontinência urinária de estresse não é nova (8, 116). Muitas substâncias foram utilizadas em um pequeno número de pacientes durante as décadas de 40 e 60, mas os resultados não foram satisfatórios apresentando complicações. Mais recentemente, novas substâncias têm sido utilizadas para esse propósito (8, 9, 133).

Utilizou-se Macroplastique® (microimplantes de silicone) para o tratamento de mulheres com incontinência urinária de estresse genuína. Concluiu-se que a injeção de Macroplastique® resultou em continência em mais da metade das pacientes em médio prazo (37).

O Uroplastic® é um composto de polimetilmetacrilato desenvolvido no Brasil, no Rio Grande do Sul e que está sendo utilizado em urologia para o tratamento da incontinência urinária.

Na otorrinolaringologia implantes para correções em cordas vocais e/ou patologias de laringe também já vêm sendo utilizados há muito tempo. Em 1911, Brunings (13) registrou resultados satisfatórios quando injetou parafina sólida em cordas vocais paralisadas, sendo relatado, por outros autores, vários casos de sucesso em experimentos semelhantes. Porém o uso da parafina foi descontinuado pela reação de corpo estranho que induzia e pela possibilidade de absorção do implante. Em 1962 e em 1966 foram realizados experimentos similares com Teflon® (6, 123).

Em substituição ao Teflon® foi proposto o colágeno bovino devido ao preenchimento de alguns critérios necessários ao implante como tolerância tecidual, baixa absorção, propriedades físicas compatíveis com a administração injetável. Contudo o tempo de permanência do material implantado foi relativamente pequeno (32, 105). Constatou-se que o tempo de duração do colágeno deve ser relacionado com o local do implante: locais

com maior mobilidade ocasionariam ruptura das fibras do colágeno implantado sendo mais fácil a sua absorção.

Outros materiais foram estudados como fragmentos de fásia autóloga (108) e fragmentos de gordura (114).

3. JUSTIFICATIVA

Considerando que a Doença do Refluxo Gastroesofágico apresenta:

- Prevalência elevada na população com impacto na qualidade de vida dos pacientes;
- Associação com transformação pré-cancerosa (Esôfago de Barrett) e adenocarcinoma esofágico;
- Elevado custo para o seu tratamento farmacológico prolongado na maioria dos pacientes;
- Definida morbidade e mortalidade quando a abordagem terapêutica utilizada é a cirurgia;

Justifica-se a pesquisa de um modelo experimental para o estudo dessa doença que permita testar novos tratamentos endoscópicos para o seu controle.

O polimetilmetacrilato (PMMA) parece ser um ótimo material para implante na área do EEI uma vez que o seu uso em seres humanos tem baixo risco, é facilmente injetável, disponível no nosso meio e tem custo relativamente baixo.

4. HIPÓTESE

“O implante endoscópico de PMMA na submucosa da região correspondente ao EEI é eficaz e reforça a “barreira anti-refluxo” em modelo experimental suíno com aumento da Pressão e Volume de Vazão Gástricos e da Pressão Basal do Esfíncter Esofágico Inferior”.

5. OBJETIVOS

1. Desenvolver um modelo experimental em suínos para o estudo do Refluxo Gastroesofágico através da Pressão e do Volume de Vazão Gástricos;
2. Avaliar a eficácia do implante endoscópico de PMMA ao nível do esfíncter esofágico inferior para aumentar a Pressão de Vazão Gástrica, o Volume de Vazão Gástrico e a Pressão Basal do EEI;
3. Descrever as modificações histológicas após o implante esofágico do PMMA.

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1 MATERIAIS

6.1.1 CARACTERIZAÇÃO DO ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO

Utilizou-se suínos da linhagem denominada Large White procedentes da Companhia Agrogen Desenvolvimento Genético Ltda (Montenegro – RS). Os experimentos foram realizados no Centro de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Um total de dezoito animais do sexo feminino com 8 semanas de idade e com peso médio inicial entre 10 e 20 Kg foi estudado, mantendo-se com isto uma uniformidade da amostra.

6.1.2 MATERIAIS NECESSÁRIOS

6.1.2.1 Cirurgia

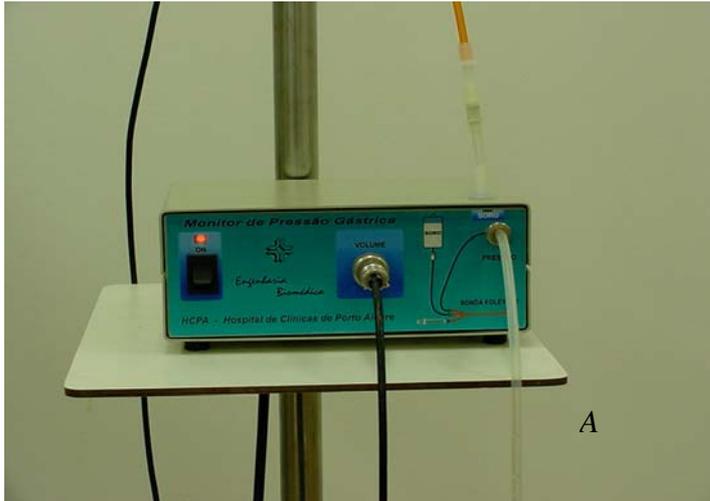
O instrumental cirúrgico necessário encontrava-se disponível no Centro de Pesquisa do HCPA, necessitando-se de complementação que foi realizada com recursos da CAPES/MEC (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/ Ministério da Educação e Cultura), através do Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia de Faculdade de Medicina (UFRGS).

6.1.2.2 Manometria Esofágica

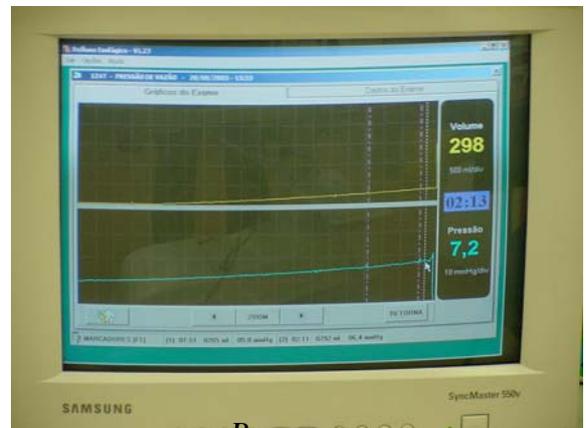
Para a manometria utilizou-se equipamento da marca Dynamed modelo Dynapack MPX 816 com software para aquisição de dados Dynasoft V Millenium (São Paulo, Brasil). O cateter de manometria de polivinil flexível possuía 8 canais, sendo 4 radiais no seu segmento distal (para avaliação do esfíncter esofágico inferior) e outros 4 com intervalos de 5 cm entre um canal e outro, no segmento médio, permitindo perfusão de água, continuamente, através de um sistema de infusão pneumoide. Este consiste em um reservatório contendo água destilada, pressurizado por um cilindro de nitrogênio sob pressão controlada. A água sai do reservatório através de tubos de aço com lúmen muito reduzido, tubos capilares, que são conectados aos transdutores de pressão que são então, conectados aos cateteres.

6.1.2.3 Pressão e Volume de Vazão Gástricos

A Pressão de Vazão Gástrica (PVG) e o Volume de Vazão Gastrico (VVG) foram obtidos através de um equipamento desenvolvido pelo Serviço de Bioengenharia do HCPA. Trata-se de um sistema de infusão de líquidos por força gravitacional, similar à infusão de soluções intravenosas, com monitorização contínua do volume infundido e graduação em mililitros (figura 1 A, B e C). Os limites de monitorização estabelecidos para a PVG foram de -10 mmHg a 30 mmHg, com resolução de 0,1 mmHg. A pressão gástrica foi monitorada através de uma sonda de Foley calibre 20 que estabeleceu uma coluna contínua de líquido do interior do estômago do animal até o sensor de pressão no equipamento havendo então a transmissão da pressão intragástrica retrogradamente para esse sensor. As curvas gráficas de PVG e VVG foram obtidas através de um software também desenvolvido pelo Serviço de Bioengenharia do HCPA.



A



B



C

Figura 1. Aparelho de monitorização da Pressão e Volume de Vazão Gástricos: A. Equipamento de infusão B. Traçado das curvas de Volume de Vazão Gástrico e de Pressão de Vazão Gástrica, respectivamente C. Visão geral da sala cirúrgica durante a monitorização da PVG e VVG.

6.1.2.4 pHmetria Esofágica

Para pHmetria esofágica, utilizou-se o equipamento da marca Medtronic®, Synetics Medical e para aquisição de dados um pHmetro modelo Digitrapper MKIII, com software EsopHogram para análise dos dados. O cateter de pHmetria possuía três sensores de antimônio, distando 5 cm entre cada um, da marca Synetics (Stockholm, Suécia).

6.1.2.5 Videoendoscopia

Utilizou-se videoendoscópio da marca Endoview® (Recife, Brasil), modelo EVG, acoplado a monitor de vídeo Sony®, 24 polegadas, e a videocassete Panasonic® para gravação dos procedimentos endoscópicos.

6.1.2.6 Injeção de PMMA

O material injetado, PMMA, em seringas de 3 ml com concentração a 30%, foi cedido pelo laboratório BioMedical Ind. Com. de Produtos Biomédicos Ltda (Porto Alegre, Brasil).

Para a injeção do PMMA utilizou-se um tubo metálico de aço inox 316L, com 54 cm de comprimento, diâmetro externo de 4,75 mm e diâmetro interno de 4,35 mm. A sua extremidade distal foi angulada em 20 graus e revestida por uma capa de PVC para não agredir a mucosa oral e esofágica (Figura 2 A e B). Esse tubo será designado, no texto a seguir, como tubo introdutor (TI). O cateter de injeção era de nylon com diâmetro externo de 3,18 mm, diâmetro interno de 1,45 mm e comprimento de 70 cm possuindo em sua extremidade distal agulha calibre 16 com bisel de 18 graus e com 4 mm de extensão (Figura 3 A e B). Esses acessórios foram desenvolvidos pela equipe de pesquisa e engenheiros (P. T. e P. S.) do Serviço de Bioengenharia do HCPA. Para injeção do PMMA utilizou-se uma pistola dosadora volumétrica para aplicação de biomaterial. Com essa pistola injetava-se uma quantidade fixa do material utilizado, no caso, cada “degrau” equivalia a 0,1463 ml de PMMA (Figura 4).

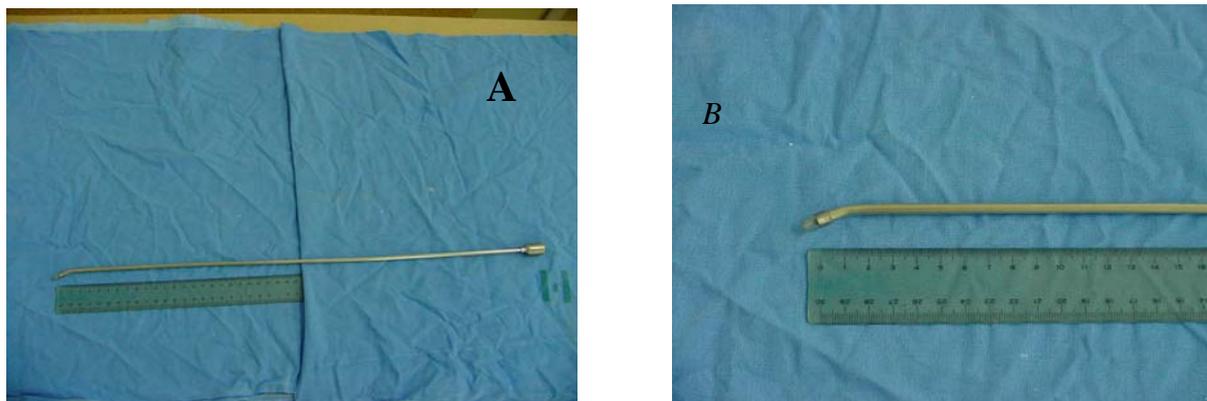


Figura 2. A. Tubo metálico para injeção de PMMA B. Angulação da extremidade distal do Tubo Introduutor

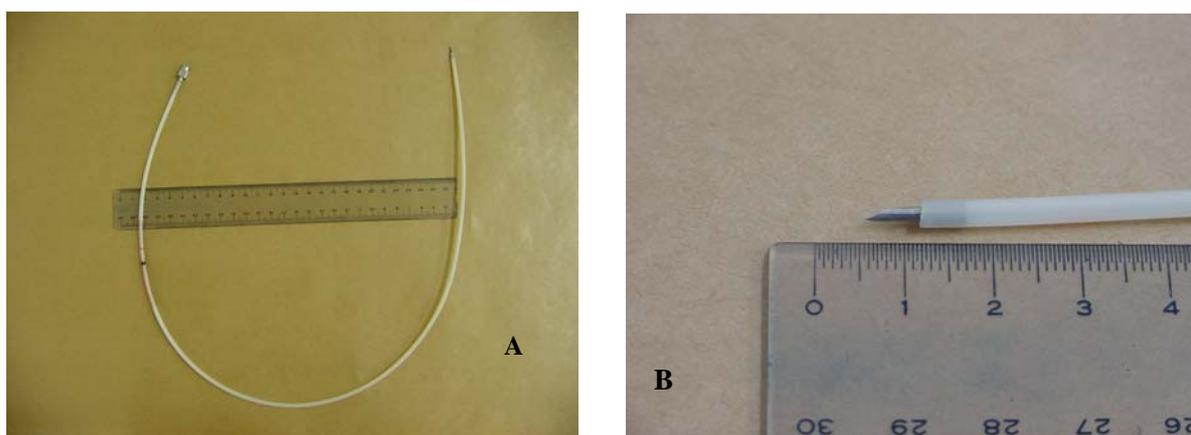


Figura 3. A. Cateter para injeção de PMMA B. Agulha na extremidade distal do cateter



Figura 4. Pistola dosadora volumétrica

6.2 MÉTODOS

6.2.1 ANESTESIA

Os animais foram anestesiados com Zoletil® 50, uma associação de tiletamina 125mg (grupo fenciclidinas), e zolazepam 125 mg (grupo benzodiazepínicos) na proporção de 1:1. A dose utilizada foi de 4 mg/kg injetado via intra-muscular (dose de indução), repetindo-se metade da dose a cada 30 minutos (dose de suplementação), via endovenosa, sempre que necessário. Associou-se um sedativo, a xilazina 2%, analgésico e relaxante muscular, na dose de 0,5 mg/kg via endovenosa.

Os suínos permaneceram entre os experimentos em um alojamento para animais domésticos que se adaptou para receber animais de experimentação, sendo transportados até o Centro de Pesquisas por um serviço veterinário especializado. No alojamento, veterinários acompanhavam os animais relatando aos pesquisadores quaisquer intercorrências. Registravam-se os pesos dos animais, a quantidade de ração que cada um recebia e ingeria e aplicava-se o antibiótico nos dias recomendados (vide abaixo).

O animal era pesado no alojamento, antes do experimento, sendo então calculada a dose dos anestésicos. O suíno era anestesiado com dose de indução anestésica, via intramuscular aguardando-se por cerca de 2 minutos para o efeito inicial dos medicamentos. Após, procedia-se ao banho com água morna e realização de tricotomia na região abdominal. Transportava-se, então, o animal à sala do experimento, colocando-o em uma calha na mesa cirúrgica, mantendo-se o mesmo posicionado em decúbito dorsal. A veia auricular era puncionada com cateter de punção venosa calibre 20 G e mantida com soro glicosado a 5% na dose de 10ml/Kg/hora. Sempre que o animal começava a apresentar aumento de movimentos espontâneos (flexão ou extensão de membros superiores e inferiores) ou reflexos motores, era aplicada dose de suplementação do anestésico via endovenosa. A dose total por animal era anotada em folha anestésica.

6.2.2 AVALIAÇÃO MANOMÉTRICA DO ESFÍNCTER ESOFÁGICO INFERIOR

A manometria do esfíncter esofágico inferior era realizada para localização e avaliação do EEI. Após conexão do cateter de manometria à bomba de infusão de água,

infundia-se os canais com água destilada até se observar ausência de bolhas de ar no interior do cateter. Fechava-se, então, a infusão de água para os canais e introduzia-se o cateter no esôfago do suíno, via oral, através de um bocal endoscópico, até à distância aproximada de 50 cm da arcada dentária superior do animal. Iniciava-se, então, logo após o reinício da perfusão com água, o registro das pressões, verificando-se, preliminarmente, se o cateter estava posicionado no estômago do animal através da pressão positiva à inspiração do animal. Utilizava-se a técnica de retirada lenta a cada 0,5 cm até a observação do traçado característico do esfíncter esofágico inferior. As medidas da pressão basal do EEI e o comprimento do esfíncter esofágico eram calculados, posteriormente. Após a manometria, retirava-se o cateter e se introduzia uma sonda naso-gástrica para esvaziamento do conteúdo gástrico líquido, com pronta retirada após cessar a saída de resíduo líquido do estômago. Iniciava-se então a gastrostomia.

6.2.3 GASTROSTOMIA

Para a infusão de líquido no estômago realizava-se gastrostomia para colocação de uma sonda de Foley de três vias. Procedia-se, inicialmente, a assepsia com solução de iodo e colocação dos campos cirúrgicos. A pele e tecido celular subcutâneo eram anestesiados com cloridrato de levobupivacaína 0,5% (50 mg /animal). Após a incisão da pele e tecido celular subcutâneo na linha média abdominal entre a cicatriz umbilical e o apêndice xifóide (extensão média: 5-7 cm), o peritônio era aberto com pronta identificação do estômago. Mobilizava-se a primeira porção do duodeno obliterando-se a mesma com uma gaze úmida, ocluindo-se totalmente a luz duodenal (Figura 5). Introduzia-se então a sonda de Foley 20 na cavidade peritoneal através de um orifício imediatamente lateral aos vasos epigástricos esquerdos. Uma gastrostomia (tipo Stamm) era realizada na grande curvatura, na transição entre o antro e o corpo gástrico. Realizaram-se duas suturas com fio seda 2,0 e após introdução da sonda no estômago, fixava-se as mesmas para imobilização da sonda. Quatro pontos de seda 2,0 fixavam a gastrostomia na parede abdominal (Figura 6). Insuflava-se o balonete da sonda de Foley com 15 ml de soro fisiológico tracionando-se o mesmo contra a parede abdominal para aumentar a vedação da gastrostomia. Mantinha-se a ferida operatória fechada durante a medida da PVG e do VVG através da colocação de pinças de campo (Backaus) na pele, restabelecendo-se a pressão intraabdominal (Figura 7). Após a infusão de líquido intragástrico e obtenção da PVG e do VVG (vide abaixo), procedia-se à retirada da sonda de Foley e da

gaze no duodeno, fechando-se a cavidade com fio Vycril 1,0 e a pele com mononylon 3,0. O animal recebia no pós-operatório imediato, penicilina benzatina na dosagem de 20000 a 40000 UI/Kg juntamente com dipirona na dose de 0,1 mg/Kg, via IM. A mesma dosagem de penicilina era repetida 3 dias após o procedimento. Caso o animal apresentasse agitação por provável dor no pós-operatório, aplicava-se tramadol na dose de 1 mg/kg via IM a cada 12 horas nas primeiras 24 horas.

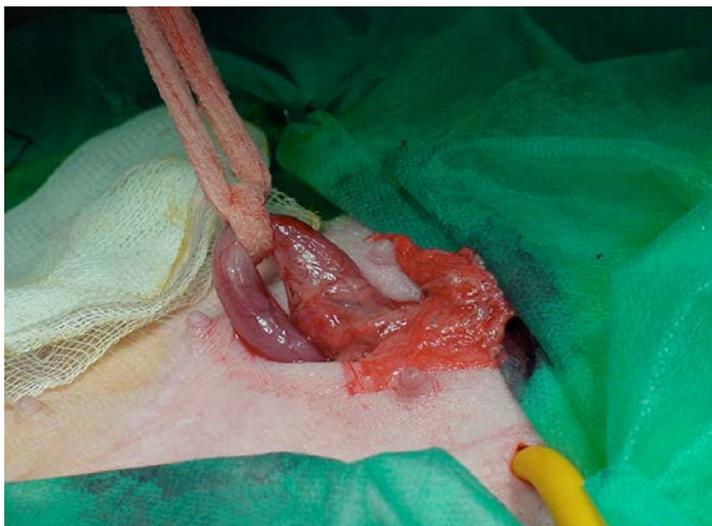


Figura 5. Obliteração da primeira porção duodenal

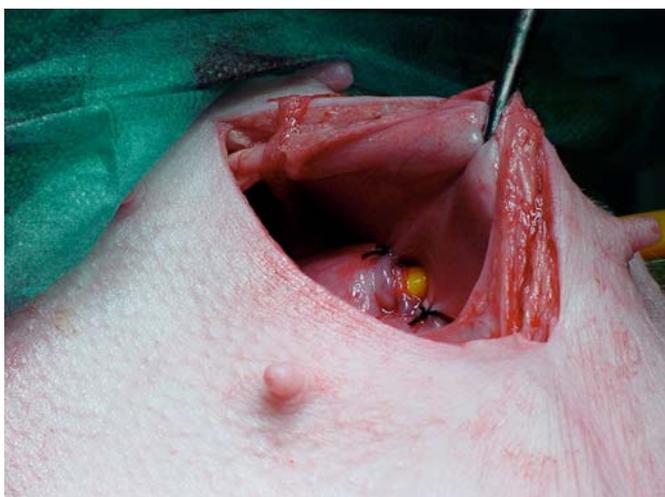
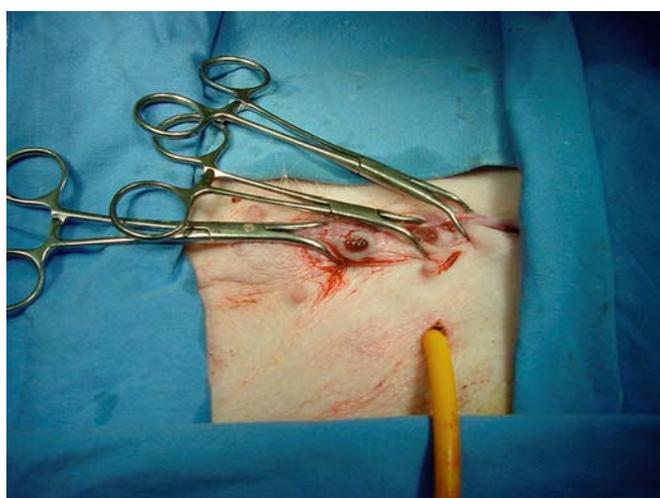


Figura 6. Fixação da gastrostomia e da sonda de Foley com pontos cirúrgicos

Figura 7. Fechamento da ferida operatória com pinças Backaus



6.2.4 LOCALIZAÇÃO DOS SENSORES DE pHMETRIA NO ESÔFAGO DISTAL E REGISTRO DA PRESSÃO E DO VOLUME DE VAZÃO GÁSTRICOS

Inicialmente o cateter com sensor de pH intra-esofágico era calibrado seguindo as instruções do fabricante utilizando-se as soluções padrões pH=1 e pH=7 marca Medtronic® e introduzido via orofaríngea, posicionando-se o sensor distal 5 cm acima da borda superior do esfíncter esofágico inferior. Essa localização era possível pelo cálculo da distância do EEI ao bocal endoscópico medida pela manometria esofágica. Para facilitar a passagem do cateter de pHmetria, utilizava-se um segmento de sonda naso-gástrica calibre 12 com 15 cm de comprimento que funcionava como um “overtube” pelo qual o cateter era passado facilmente através da orofaringe (Figura 8). Conectava-se então o cateter ao pHmetro para registro dos valores de pH, simultaneamente, à infusão de volume líquido intragástrico através da sonda de Foley.

Após a identificação do animal no software do computador acoplado, o cateter de mensuração da pressão era conectado na via de menor calibre da sonda de Foley deixando-se fluir a solução até o preenchimento do sistema. Após a calibração do equipamento, iniciava-se a infusão contínua de volume através da via de maior calibre da sonda de Foley e iniciava-se a mensuração gradual da pressão e do volume intragástricos. Utilizou-se uma solução de HCl a 0,02 N preparada pelos pesquisadores da equipe. O pH inicial (acima de 4) nos sensores distal e proximal foi anotado antes e a cada 4 segundos. Observava-se então a variação de pH enquanto era infundida a solução ácida no estômago e obtido o traçado de volume e da variação da pressão intragástrica (Anexo II). Quando o pH caía abaixo de 3 (nível arbitrariamente estabelecido pelo grupo de pesquisa uma vez que o pH da solução de HCl foi aproximadamente 1), registrava-se então a PVG e o VVG correspondentes à vazão com refluxo para o esôfago.

Definiu-se como Pressão de Vazão Gástrica a pressão intragástrica que levou ao escape de líquido ácido para o esôfago identificado pela rápida queda do pH intra-esofágico e registrado pelo pHmetro. O Volume de Vazão Gástrico foi definido como o volume intragástrico que provocou o escape de líquido ácido para o esôfago, identificado pela pHmetria esofágica. Esta rotina foi realizada observando-se o sensor distal do pHmetro.



Figura 8. Passagem do cateter de pHmetria através do “overtube”

6.2.5 VIDEOENDOSCOPIA E IMPLANTE ENDOSCÓPICO DE PMMA

Após a retirada da sonda de Foley e o fechamento da ferida operatória, iniciava-se a endoscopia digestiva alta. O suíno recebia imediatamente antes do exame endoscópico, escopolamina (0,006 mg/Kg) endovenosa para diminuir os movimentos do esôfago e atropina (0,044 mg/kg) endovenosa para diminuir a secreção salivar. Retirava-se o animal do decúbito dorsal reposicionando-o em decúbito lateral esquerdo. A endoscopia era realizada avaliando-se inicialmente a mucosa esofágica dos suínos. Introduzia-se um fio guia através do endoscópio, que após a retirada do mesmo, servia para a introdução do TI com hiperextensão da cabeça do animal para facilitar a sua introdução. Após a localização do TI no esôfago médio, o endoscópio era então reintroduzido até a visualização do segmento distal do TI, retirando-se o fio guia. Avançava-se simultaneamente o TI e o endoscópio até a uma distância de 35 a 40 cm da arcada dentária superior quando se atingia o segmento distal esofágico. Após posicionamento do TI no local escolhido para injeção introduzia-se, através do mesmo, o catéter de injeção, já previamente preenchido com o PMMA e conectado a uma seringa de 3 ml com PMMA inserida na pistola dosadora. O êmbolo da seringa era removido, previamente, para permitir a conexão da mesma à pistola através de um adaptador também desenvolvido pelo Serviço de Bioengenharia (Figuras 9 A e B ; 10 A e B).

Uma vez exposta a agulha, penetrava-se a mucosa em uma angulação orientada pela angulação da extremidade distal do tubo metálico (20°) e injetava-se o implante na submucosa (média de 0,73ml em cada ponto, em um total de três pontos após rotação de 30 a 45° do sistema entre os diferentes pontos de injeção). Todos os procedimentos foram documentados em videocassete.

Uma vez implantado o material, retirava-se o tubo metálico e introduzia-se o endoscópio até o estômago, desinsuflando-o e observando-se os locais de implante.

Cada animal foi submetido novamente à manometria, gastrostomia (no mesmo local que a anterior, uma vez que o estômago já se encontrava fixado na parede) e mensuração do volume e da Pressão de Vazão Gástricos, 28 dias após o implante. A endoscopia foi realizada também para observar os locais do implante esofágico.

Durante o período de 28 dias, os animais foram observados para avaliação de sintomas como vômitos e/ou diminuição da ingestão alimentar e/ou diminuição do peso

corporal que pudessem indicar subestenose ou estenose esofágica. O fluxograma do experimento pode ser analisado na figura 11.

Todos os animais receberam a mesma ração (Ração Terminação Suínos ®), com 13% de proteína bruta, 13% de matéria mineral, 5% de matéria fibrosa, 2,5% de extrato etéreo, 1,3% de cálcio e 0,35% de fósforo, sendo enriquecida com oligoelementos e vitaminas. A quantidade de ração oferecida foi igual para cada animal para manter um desenvolvimento homogêneo dos animais estudados.

Ao término do experimento no dia 28, os animais foram sacrificados utilizando-se o medicamento T61® (Laboratório Intervet), uma associação de embutramida (narcótico), iodeto de mebezonio (curarizante) e cloridrato de tetracaína (anestésico local). A dose para sacrifício equivale a 0,3 ml/Kg peso do animal. Todos os animais tiveram retirados o esôfago médio, a transição esofagogástrica, fundo gástrico e parte do corpo gástrico para estudo histológico e documentação fotográfica no Laboratório de Patologia do Hospital de Clínicas Veterinárias da Faculdade de Veterinária da UFRGS.



Figura 9. A. Introdução do Tubo Introdutor no esôfago. B. Passagem simultânea do Tubo Introdutor + endoscópio

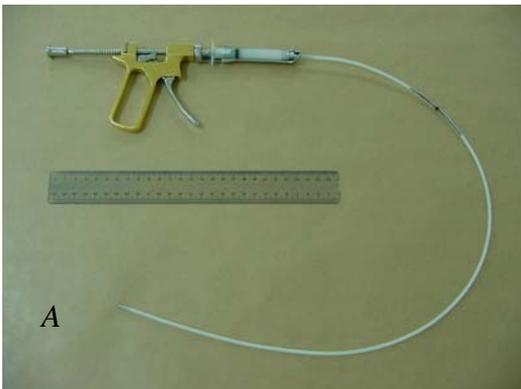
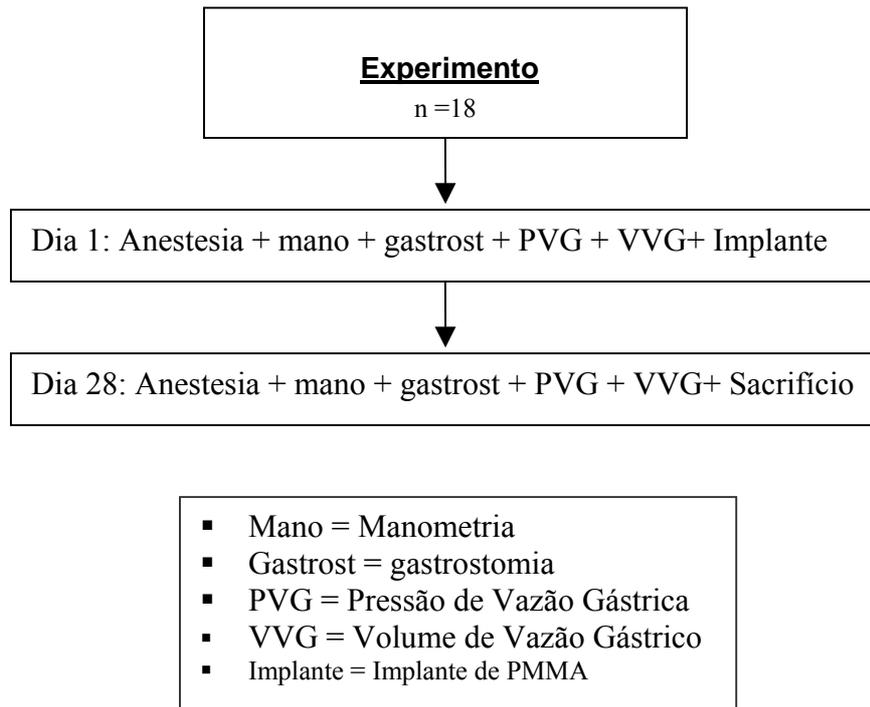


Figura 10. A. Cateter de injeção do PMMA montado com a pistola dosadora volumétrica

B. Implante de PMMA na transição esofagôgástrica do animal sob visão endoscópica



Figura 11. Fluxograma do Experimento



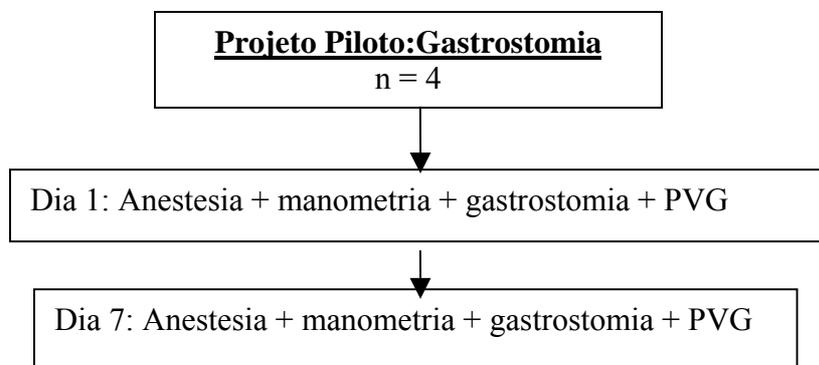
6.2.6 PROJETO PILOTO: GASTROSTOMIA

O Projeto Piloto: Gastrostomia foi realizado entre junho e julho de 2003 para determinar a reprodutibilidade da pressão de vazão em dois momentos distintos. Nesse projeto procedeu-se à manometria, gastrostomia, e mensuração da PVG como descrito acima no dia 1. Esses mesmos procedimentos foram repetidos 7 dias após.

Os animais foram sacrificados no sétimo dia, após repetição dos procedimentos e medição das mesmas variáveis, para documentação da histologia normal do esôfago e da região do esfíncter esofágico inferior dos suínos.

Os resultados do dia 1 foram comparados com os do dia 7. O fluxograma do Projeto Piloto: Gastrostomia encontra-se na figura 12.

Figura 12. Fluxograma do Projeto Piloto: Gastrostomia



6.2.7 PROJETO PILOTO: REFLUXO GASTROESOFÁGICO POR pHMETRIA DE 24 HORAS(RGE 24H)

Após a revisão da literatura iniciou-se um Projeto Piloto em um total de 10 animais no período de janeiro de 2001 a outubro de 2002. Em cinco animais foi inicialmente testada a anestesia com halotano com perda dos 5 animais durante os procedimentos, abandonando-se essa abordagem farmacológica. Após avaliação e concordância entre os pesquisadores recebemos a visita da Professora Yvone Vicente do Departamento de Cirurgia da USP Ribeirão Preto e reiniciou-se o protocolo com as sugestões daquela pesquisadora como consta na seção Material e Métodos quanto ao novo método anestésico. Vencida essa etapa, iniciou-se, então, o estudo endoscópico do esôfago, estômago e duodeno dos animais bem como a avaliação do melhor modo de introdução e manutenção das sondas.

Optou-se, inicialmente, para a introdução e manutenção do cateter de pHmetria por 24 horas, pela realização de dissecação e tunelização do tecido celular subcutâneo desde a região occipital até a região nasal com perfuração da cartilagem nasal e passagem do cateter, protegido no interior de uma sonda naso-gástrica, através do tecido celular subcutâneo e do pertuito em cartilagem. O cateter então seguia pela cavidade nasal até a orofaringe sendo guiado para o esôfago pelo endoscópio. Nesta técnica, obteve-se sucesso na passagem do cateter, porém houve sistematicamente infecção da incisão cirúrgica no segundo grupo de cinco animais uma vez que a mesma tinha que ser manipulada em cada procedimento, com nova dissecação e passagem do cateter. A monitorização do pH também foi difícil não se obtendo, sistematicamente, valores confiáveis durante a pHmetria. Optou-se então pelo abandono dessa técnica de abordagem para obtenção da pHmetria prolongada.

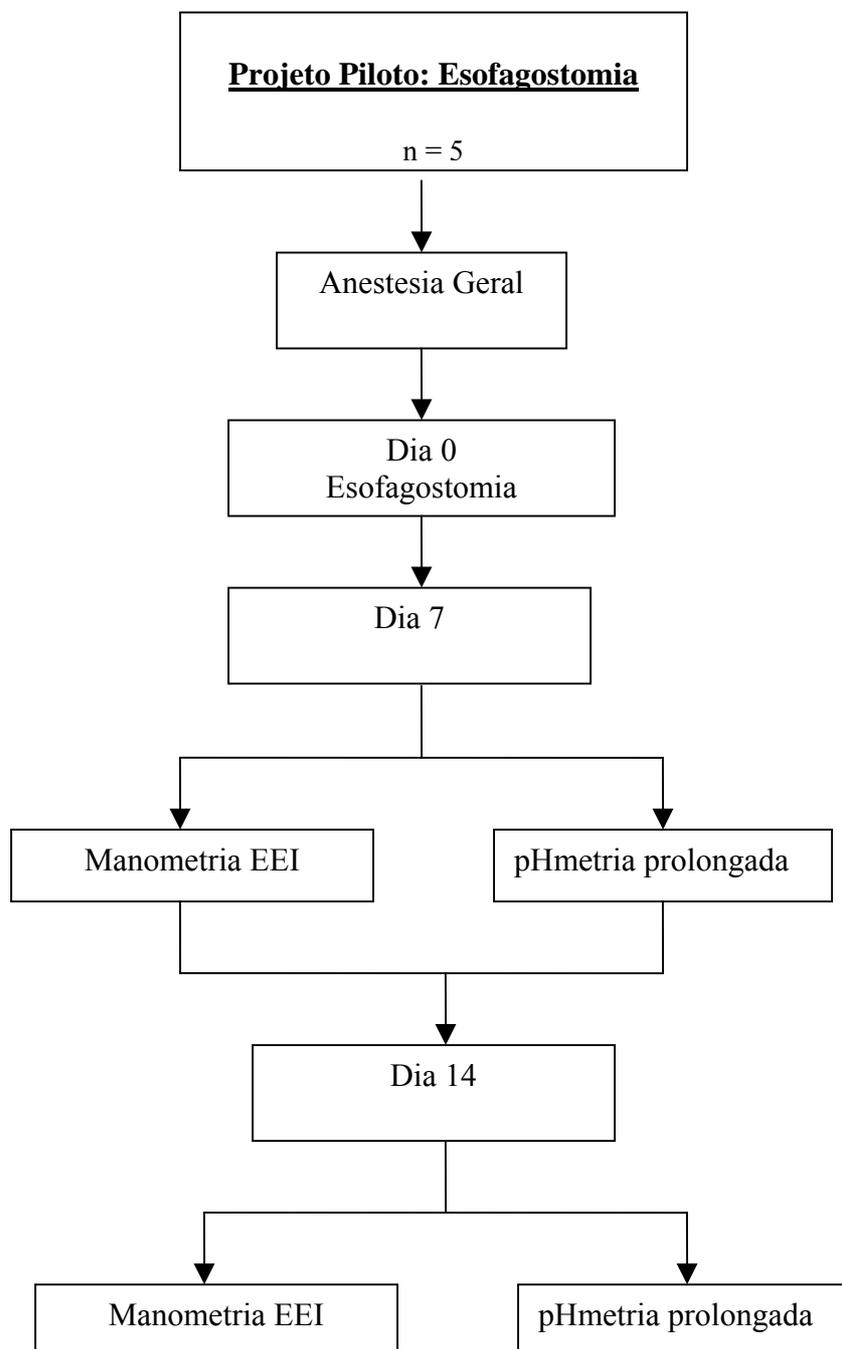
6.2.8 PROJETO PILOTO: ESOFAGOSTOMIA

No 2º semestre de 2002 realizou-se um novo Projeto Piloto aonde foram realizadas esofagostomia, manometria esofágica e pHmetria esofágica prolongada em um total de cinco (5) animais. Com estas técnicas visava-se a passagem do cateter de pHmetria e manutenção do mesmo durante 24 horas para avaliar o pH intra-esofágico, uma vez que em experimento descrito por Kadirkamanathan et al. (53) havia evidência forte de refluxo gastroesofágico ácido espontâneo em 6 animais nessa linhagem de suínos.

No primeiro dia de pesquisa (dia 1) realizava-se esofagostomia com manutenção de um segmento de cateter nasal calibre 8 para manter o pertuito aberto da esofagostomia. No 7º dia do experimento (dia 7), prosseguia-se com a manometria do EEI via esofagostomia e pHmetria prolongada (24 horas), mantendo-se o pHmetro em uma “mochila” desenvolvida pelos autores que permanecia no dorso do animal durante o registro de pH intraesofágico. No dia seguinte, era retirado o cateter de pHmetria. Após sete (7) dias da primeira pHmetria, portanto, no 14º dia após a esofagostomia, novamente eram realizadas manometria do EEI e pHmetria esofágica prolongada. No dia seguinte retirava-se o cateter e o animal era sacrificado com ressecção do esôfago para estudo anatômico e histológico bem como documentação fotográfica.

Os resultados das pHmetrias no dia 7 e no dia 14 foram comparados para observar a presença de refluxo e a reprodutibilidade dos achados pHmétricos. O fluxograma do Projeto Piloto: Esofagostomia pode ser observado na figura 13.

Figura 13. Fluxograma do Projeto Piloto: Esofagostomia



7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

No Projeto Piloto: Esofagostomia, os animais tiveram as pHmetrias repetidas após sete dias para testar a reprodutibilidade das variáveis. Os parâmetros utilizados foram: número total de episódios de refluxo no dia 7 e dia 14; maior episódio de refluxo (minutos) dia 7 e dia 14; tempo total em que o pH foi menor do que 4 (minutos) dia 7 e dia 14; porcentagem de tempo em que o pH foi menor que 4 dia 7 e dia 14. O teste utilizado foi o Teste de Wilcoxon para amostras pareadas que não obedecem a uma distribuição gaussiana.

No Projeto Piloto: Gastrostomia, a PVG obtida também foi analisada através do Teste de Wilcoxon, comparando a PVG no dia 1 e no dia 7.

Estimou-se o tamanho da amostra do Experimento baseando-se nos resultados obtidos para a PVG no Projeto Piloto: Gastrostomia. O tamanho estimado foi de 17 suínos. Optou-se pela inclusão de 18 animais visando perdas e pela logística do experimento que previa a realização de experimento em dois animais por dia. Salienta-se que, não tendo na literatura dados relativos ao implante de PMMA em animais, nem tampouco à monitorização da PVG e VVG, o tamanho da amostra calculado foi utilizado como uma orientação e não como um número imutável de animais a serem utilizados no experimento.

No Experimento, os valores referentes ao VVG não seguiam uma distribuição gaussiana, utilizou-se então uma transformação do tipo logaritmo na base n ($\ln(VV) = \logaritmo \text{ do volume de vazão na base n}$). Em seguida os valores obtidos em logaritmo foram calculados em função do peso do animal nos dias 1 e 28, obtendo-se então uma reta, utilizando-se para isto uma regressão linear do tipo: $\ln(VV) = a + b(\text{peso})$. Em seguida procedeu-se à correção dos valores para que quando o peso aumentasse, o volume de vazão não se alterasse; utilizou-se a equação:

$$Y \text{ corrigido} = \bar{Y} + (Y \text{ observado} - \hat{Y}) \text{ onde:}$$

\bar{Y} = valor médio do Volume de Vazão Gástrico, expresso em log;

Y observado = valor do Volume de Vazão Gástrico expresso em log;

\hat{Y} = valor calculado pela equação da reta acima descrita

Uma vez obtidos os valores corrigidos do Volume de Vazão Gástrico (em logaritmo), os valores foram comparados utilizando-se também o Teste t de *Student* para amostras pareadas.

Os valores obtidos para a Pressão de Vazão Gástrica no dia 1 e dia 28 (pré e pós implante) foram correlacionados com o peso dos animais nos dias 1 e 28, respectivamente e não houve correlação estatisticamente significativa, mesmo assim, dentro de um rigor

estatístico, corrigiu-se os valores obtidos para a PVG no dia 1 e 28 pelos pesos dos animais nesses mesmos dias seguindo-se as equações descritas anteriormente. Os valores obtidos foram comparados através do Teste t de *Student* para amostras pareadas.

Os resultados da manometria referentes à pressão basal do EEI e extensão do EEI foram comparados também através do Teste t de *Student* para amostras pareadas.

Considerou-se significativo valor de p igual ou inferior a 0,05 ($\alpha = 0,05$).

O programa de análise estatística utilizado foi o *SPSS 11.0 for Windows*.

Os resultados histológicos obtidos após implante de PMMA foram analisados. Uma vez que não existiam dados na literatura sobre as alterações histológicas do implante de PMMA ao nível do esôfago, visou-se à obtenção desses dados somente para descrição.

8. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O Projeto obteve aprovação pela Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde / Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG) / Hospital de Clínicas de Porto Alegre. As normas para a utilização de animais em projetos de pesquisa da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde / GPPG / Hospital de Clínicas de Porto Alegre podem ser analisadas no Anexo III.

9. RESULTADOS

9.1 PROJETOS PILOTOS

9.1.1 PROJETO PILOTO: REFLUXO GASTROESOFÁGICO POR pHMETRIA de 24 HORAS

Cinco animais submetidos a anestesia com halotano, quer através de entubação oro-traqueal, quer por entubação naso-traqueal, foram a óbito durante a indução anestésica.

Realizou-se anestesia com zoletil e xilazina e a tunelização do tecido celular subcutâneo em outros 5 animais. Este procedimento foi abandonado pela constante infecção da tunelização, o que dificultou a pHmetria esofágica prolongada.

9.1.2 PROJETO PILOTO: ESOFAGOSTOMIA

Cinco animais foram submetidos à pHmetria prolongada durante 24 horas via esofagostomia. Os dados obtidos durante a pHmetria prolongada encontram-se discriminados para cada animal na tabela 1. Não houve perda de animais. Como este Projeto Piloto foi realizado com o intuito de confirmar refluxo gastroesofágico espontâneo nesses animais, segundo Kadiramanathan et al (53), os parâmetros utilizados seguiram os mesmos adotados por esse pesquisadores. As médias obtidas para os valores obtidos podem ser observadas na tabela 2.

Tabela 1. Projeto Piloto: Esofagostomia. Resultados da pHmetria esofágica prolongada nos dias 7 e dia 14 (n=5)

Parâmetros	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4		Animal 5	
	Dia	Dia	Dia	Dia	Dia	Dia	Dia	Dia	Dia	Dia
	7	14	7	14	7	14	7	14	7	14
Nº total episódios refluxo	1	7	7	1	0	9	46	22	35	61
> episódio refluxo (min.)	0	0	1	0	0	2	1	18	9	25
Tempo total pH<4 (min)	0	1	3	0	0	5	8	42	28	104
% tempo pH<4	0	0,10	0,20	0	0	0,4	0,6	3,3	2,2	7,9

Tabela 2. Projeto Piloto: Esofagostomia: Valores médios da pHmetria esofágica prolongada nos dias 7 e 14 (n=5)

Parâmetros	Média ± dp	
	Dia 7	Dia 14
Nº total episódios refluxo	17,80 ± 21,25	20,00 ± 24,17
> episódio refluxo (min.)	2,20 ± 3,83	9,00 ± 11,70
Tempo total pH<4 (min)	7,80 ± 11,76	30,40 ± 44,68
% tempo pH<4	0,60 ± 0,93	2,34 ± 3,39

dp = Desvio Padrão

Refluxo gastroesofágico consistente foi observado somente em uma ocasião em um único animal (nº 5). Nesse suíno, no dia 14, houve refluxo considerado patológico pelos parâmetros utilizados em seres humanos, descritos no Anexo IV.

A análise da reprodutibilidade foi realizada através do teste de Wilcoxon (uma vez que os valores obtidos não seguem uma distribuição normal, gaussiana). A amostra é pequena (n=5) e isto impediu a utilização dos valores obtidos para Z pelo programa estatístico (SPSS 11). Foi necessário verificar os valores exatos de p (em uma tabela específica) para os postos calculados (T+ e T-). Como pode ser observado na tabela 3, não se encontrou diferença estatisticamente significativa para nenhum parâmetro estudado. Portanto, concluiu-se que não existiu refluxo significativo nos animais estudados, sendo os dados reproduzíveis, não se confirmando os resultados de Kadirkamanathan.

Tabela 3. Projeto Piloto: Esofagostomia. Reprodutibilidade dos valores da pHmetria esofágica prolongada em dois momentos distintos (n=5)

Pares	T+	T -	p*
Nº total episódios refluxo (dia 7 e 14)	9,5	5,5	> 0,25
> episódio refluxo (min.) (dia 7 e 14)	9,0	1,0	0,05 < p < 0,10
Tempo total pH<4 (min) (dia 7 e 14)	13,0	2,0	0,10
% tempo pH<4 (dia 7 e 14)	13,0	2,0	0,10

* Nº total episódios refluxo : T(Wilcoxon) = 5,5 ; n=5 ; p>0,25

> episódio refluxo : T(Wilcoxon) = 1,0 ; n=5 ; 0,05<p<0,10

Tempo total pH<4: T(Wilcoxon) = 2 ; n=5 ; p = 0,10

% tempo pH<4 : T(Wilcoxon) = 2 ; n=5 ; p = 0,10

Uma vez que não se obteve refluxo espontâneo consistente nos animais estudados, optou-se pelo desenvolvimento de um modelo onde o refluxo gastroesofágico fosse induzido. A PVG foi então escolhida, testada e medida através dos equipamentos e procedimentos descritos em Material e Métodos.

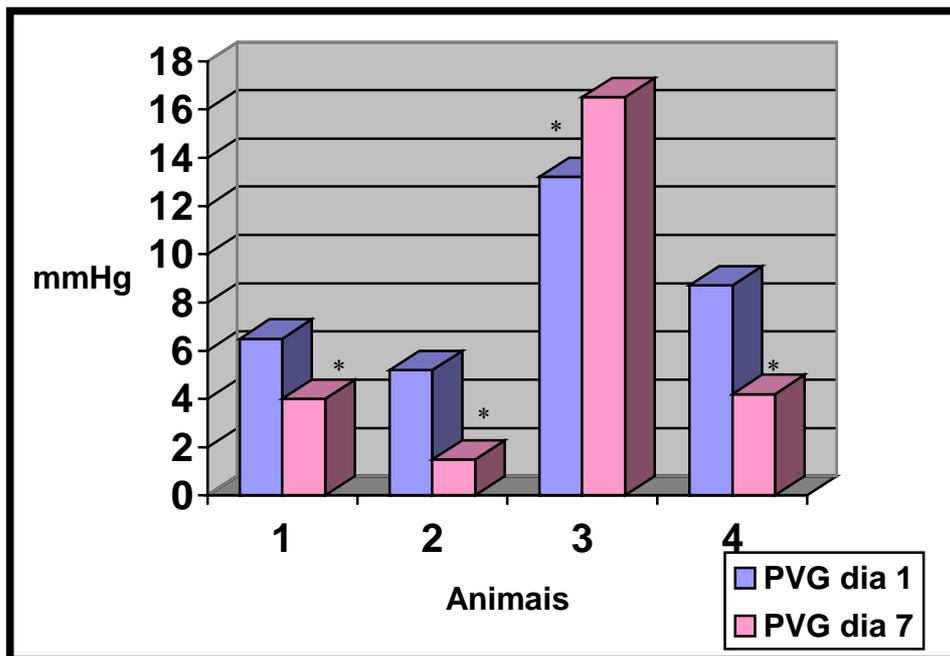
9.1.3 PROJETO PILOTO: GASTROSTOMIA

A experiência foi conduzida com quatro animais para a avaliação da Pressão de Vazão Gástrica e estudo de sua utilização para o desenvolvimento de um modelo animal para o estudo da “barreira anti-refluxo”. Os valores obtidos encontram-se na tabela 4 e podem ser visualizados graficamente na figura 14. Na tabela 5 as médias e desvios-padrões (s) obtidos podem ser observados.

Tabela 4. Projeto Piloto: Gastrostomia: Valores individuais obtidos para a Pressão de Vazão Gástrica em dois momentos distintos (n=4)

ANIMAIS	PVG (mmHg)	
	DIA 1	DIA 7
1	6,5	4,0
2	5,2	1,5
3	13,2	16,5
4	8,7	4,2

Figura 14. Projeto Piloto: Gastrostomia. Comparação dos valores obtidos para a Pressão de Vazão Gástrica (PVG) em dois momentos distintos (n=4)



- * T(Wilcoxon) = 2,0 ; n=4 ; p = 0,25
- PVG = Pressão de Vazão Gástrica

Tabela 5. Médias obtidas para Pressão de Vazão Gástrica em dois momentos distintos (n=4)

Parâmetros	Média * ± d p
Pressão de vazão dia 1 (mmHg)	8,40 ± 3,51
Pressão de vazão dia 7 (mmHg)	6,55 ± 6,75

d p = Desvio Padrão

Utilizando-se a mesma regra descrita anteriormente para o projeto piloto:esofagostomia, quando comparada a PVG no dia 1 e no dia 7 através do Teste de Wilcoxon obteve-se: $t^+ = 2,0$; $t^- = 8,0$; $T(\text{Wilcoxon}) = 2,0$ e $p = 0,25$. Com isto chegou-se à conclusão de que, na amostra estudada, não houve diferença, estatisticamente significativa, entre as Pressões de Vazão Gástricas obtidas no dia 1 e no dia 7 demonstrando reprodutibilidade dessa variável. A PVG pôde então ser utilizada como modelo experimental para o estudo do refluxo gastroesofágico.

9.2 EXPERIMENTO

9.2.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ANIMAIS ESTUDADOS

Dezoito animais foram alocados para o experimento. Quatro animais evoluíram para óbito no decorrer do estudo. Desses, somente um animal apresentou como causa do óbito o implante de PMMA. À necropsia observou-se perfuração esofágica com PMMA encontrado em mediastino. Outro animal faleceu 3 semanas após o implante e apresentou, à necropsia, perfuração do intestino grosso, sem causa aparente da mesma, salientando-se que as alças intestinais não eram manipuladas no trans-operatório. Dois outros animais evoluíram para óbito após 2 e 4 semanas do procedimento respectivamente e apresentaram pneumonia à necropsia.

Quatorze animais completaram o experimento. Somente em um animal houve complicação durante os procedimentos: dispnéia com cianose, necessitando de ventilação com máscara. O quadro foi revertido e esse animal evoluiu bem, completando-se o período de 28 dias do experimento. O tempo médio para os experimentos, desde a indução anestésica até o

término do implante pela endoscopia, foi de 2:42 horas ($\pm 0:46$) para o dia 1 e de 2:32 horas ($\pm 1:00$) para o dia 28. No acompanhamento dos animais entre o dia 1 (dia do implante) e o dia 28 (dia da revisão e sacrifício), não foram observados sintomas que pudessem indicar obstrução esofágica: vômitos, falta de apetite, diminuição de peso ou prostração.

A média dos pesos dos animais quando entravam na experiência, portanto com 8 semanas de vida foi 14,98 Kg ($dp=\pm 2,43$). E, 28 dias após o implante, a média obtida foi 20,26 Kg ($dp=\pm 3,68$), compatível com o ganho ponderal estimado pelos criadores.

A média de Zoletil utilizado no dia 1 foi de 9,61 ml ($dp=\pm 5,22$) e no dia 28: 10,58 ml ($dp=\pm 3,41$). Em relação à Xilazina: dia 1= 3,32 ml ($dp=\pm 2,11$) e dia 28 = 3,1ml ($dp=\pm 0,83$).

No Anexo V as variáveis obtidas de todos os animais podem ser observadas.

9.2.2 PRESSÃO DE VAZÃO GÁSTRICA (PVG)

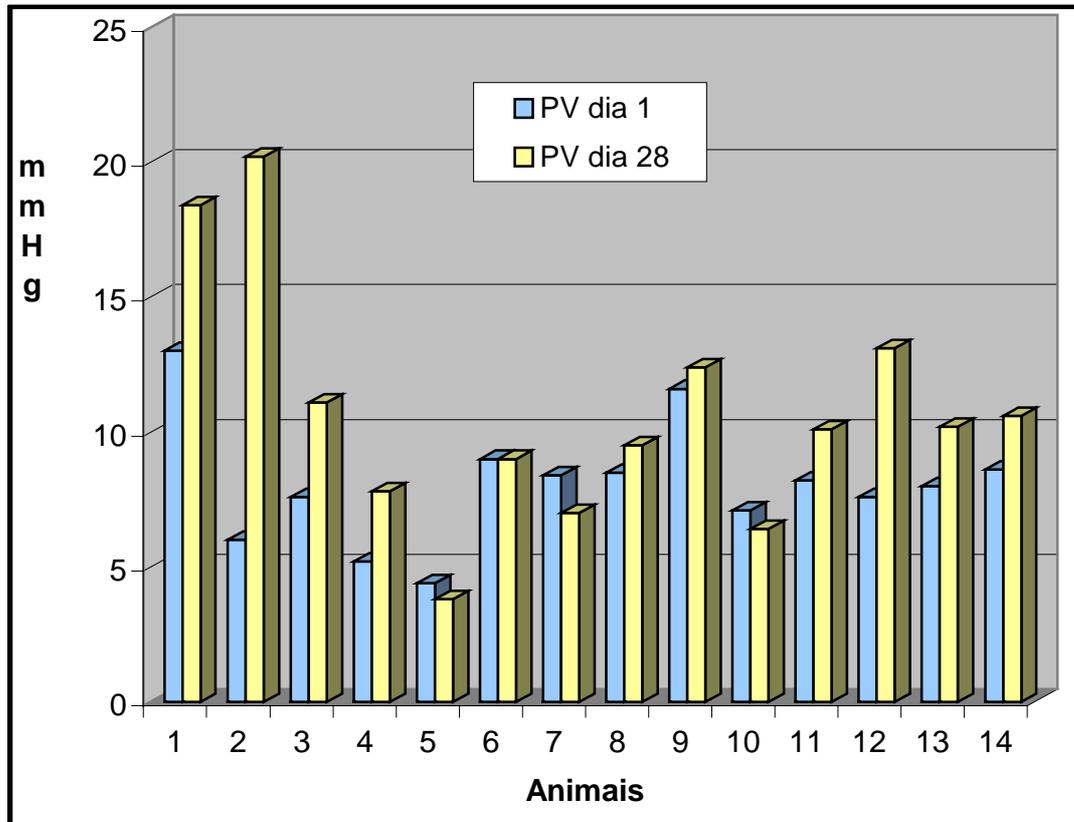
Os valores obtidos para a PVG nos dias 1 e 28, para cada animal, podem ser observados na tabela 6 e na figura 15 pode-se comparar graficamente as PVG obtidas nos dias 1 e 28.

Tabela 6. Valores individuais obtidos para Pressão de Vazão e médias em dois momentos distintos (n=14)

Animal	PVG (mmHg)	
	dia 1	dia 28
1	13,00	18,40
2	6,00	20,20
3	7,60	11,10
4	5,20	7,80
5	4,40	3,80
6	9,00	9,00
7	8,40	7,00
8	8,50	9,50
9	11,60	12,40
10	7,10	6,40
11	8,20	10,10
12	7,60	13,10
13	8,00	10,20
14	8,60	10,60
Média ± dp	8,08 ± 2,23	10,69 ± 4,0

PVG = Pressão de Vazão Gástrica dp = Desvio Padrão

Figura 15. Valores individuais das Pressões de Vazão Gástricas obtidas em dois momentos distintos (n = 14)



PVG = Pressão de Vazão Gástrica

A comparação das PVGs no Projeto Piloto: Gastrostomia após 1 semana não demonstrou diferença entre os valores obtidos. Não existiu entretanto, um grupo controle para comparação 28 dias após o primeiro procedimento para verificar se as pressões, sem manipulação esofágica, sofreriam interferências pelo ganho ponderal dos animais. No Experimento, correlacionou-se então as pressões de vazão nos dias 1 e 28 com os pesos dos animais nos dia 1 e 28, respectivamente através da equação: $PV = a + b (\text{peso})$. Os valores obtidos foram:

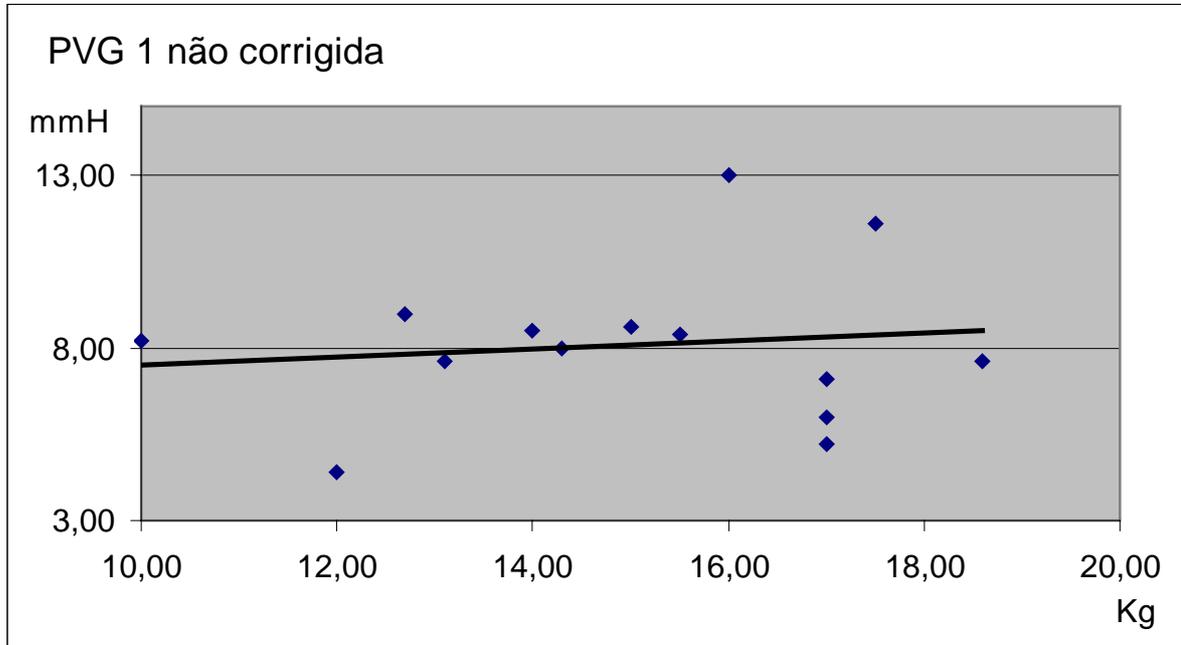
Pressão de Vazão Gástrica dia 1 (PV dia 1) $r = 0,13$ $p = 0,67$ $n = 14$

Pressão de Vazão Gástrica dia 28 (PV dia 28) $r = 0,43$ $p = 0,13$ $n = 14$, aonde $r =$ coeficiente de correlação produto-momento de Pearson

Pelos valores obtidos pelas equações de regressão, não houve correlação entre as pressões de vazão e os pesos em momentos distintos. Mas, por um rigor estatístico, resolveu-se corrigir os mesmos pelo peso nos dois momentos diferentes (dia 1 e dia 28).

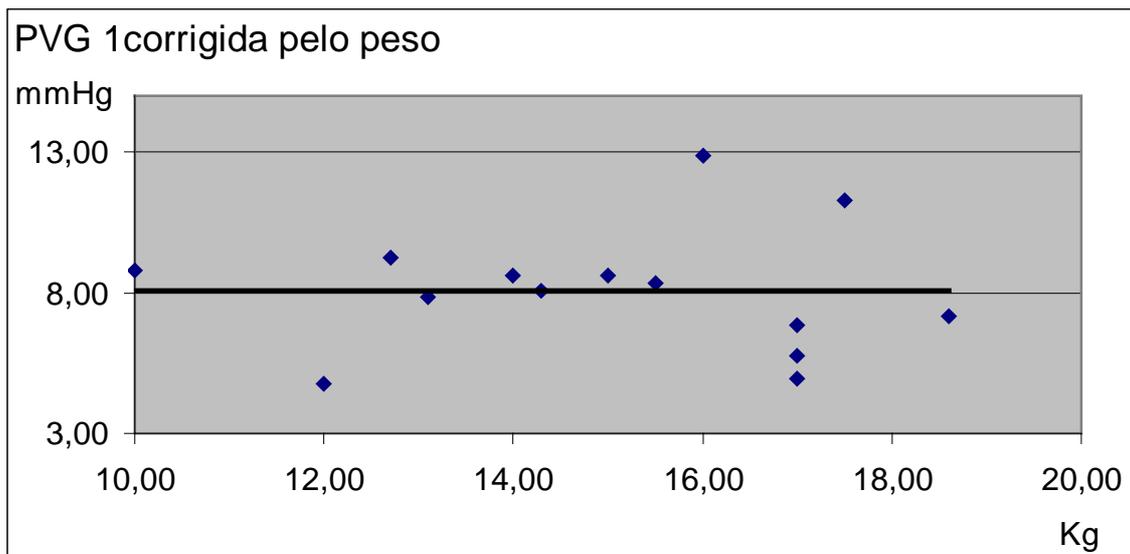
Na figura 16 pode-se observar a reta obtida sem a correção pelo peso para os valores de PV no dia 1 e na figura 17 pode-se observar com a correção pelo peso no dia 1.

Figura 16. Gráfico da Pressão de Vazão Gástrica dia 1 X peso dia 1 (n = 14)



PVG1 = Pressão de Vazão Gástrica no dia 1 r (coeficiente de correlação) = 0,13

Figura 17. Gráfico da Pressão de Vazão Gástrica dia 1 corrigida pelo peso X peso dia 1 (n = 14)

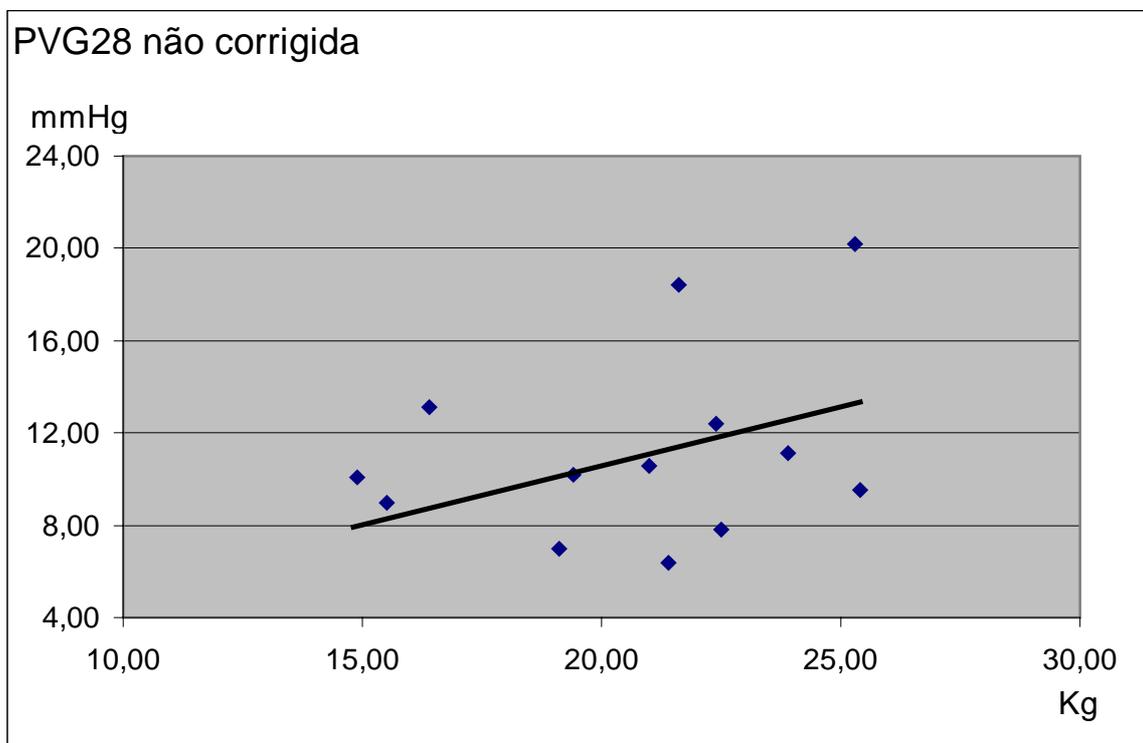


PVG1 = Pressão de Vazão Gástrica no dia 1 r (coeficiente de correlação) < 0,001

Para os valores de PVG sem correção no dia 1, em uma avaliação qualitativa do coeficiente de correlação quanto à intensidade, observa-se uma correlação fraca com o peso no dia 1 (valores de r entre 0 e 0,3) ($p > 0,05$ que já demonstra não existir correlação entre pressão de vazão e o ganho ponderal mesmo antes da correção). Para os valores de PVG com correção no dia 1, a correlação com o peso foi fraca para nula ($0,3 < r < 0$)

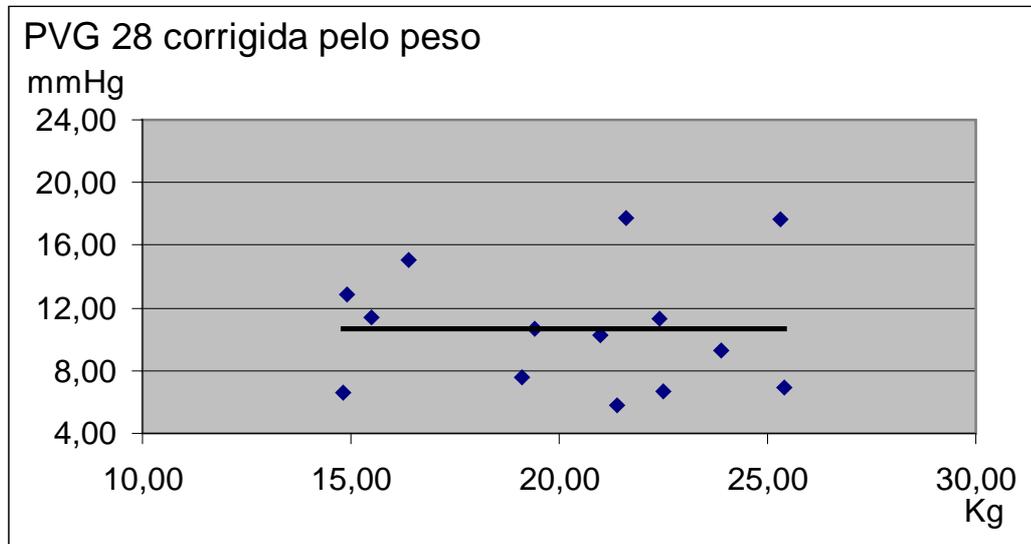
Na figura 18 pode-se observar a reta obtida sem a correção pelo peso para os valores de PV no dia 28 e na figura 19 observa-se a correção pelo peso no dia 28.

Figura 18. Gráfico da Pressão de Vazão Gástrica dia 28 X peso dia 28 (n = 14)



PVG 28 = Pressão de Vazão Gástrica no dia 28 r (coeficiente de correlação) = 0,42

Figura 19. Gráfico da Pressão de Vazão Gástrica dia 28 corrigido pelo peso X peso dia 28 (n = 14)

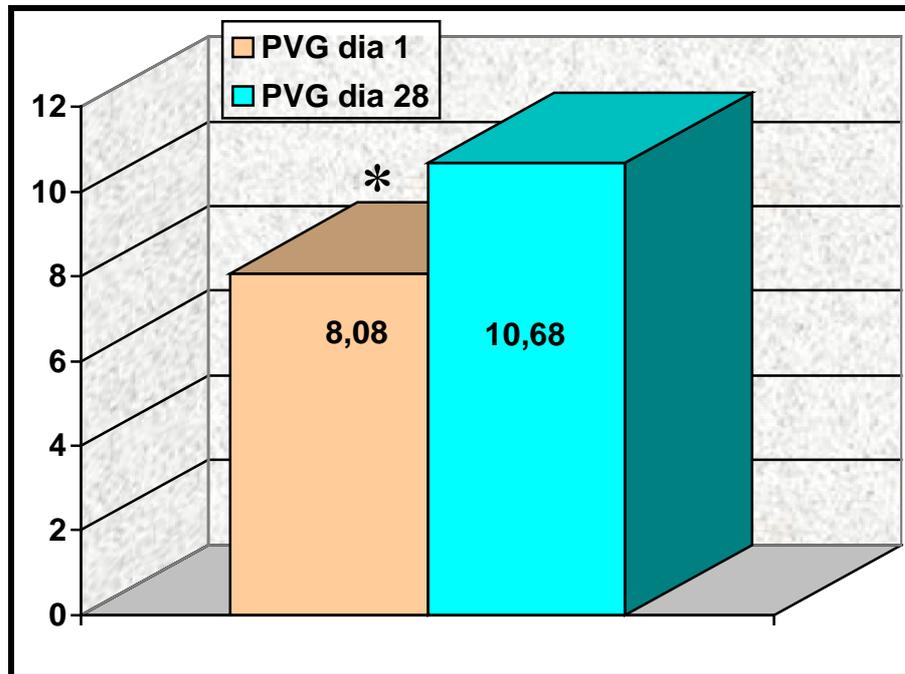


PVG28= Pressão de Vazão Gástrica no dia 28 r (coeficiente de correlação) < 0,001

No dia 28, os valores sem correção apresentaram correlação regular (mas $p > 0,05$ o que mostra não ter significância estatística). Com correção, a correlação da PVG no dia 28 com o peso foi fraca para nula ($0,3 < r < 0$). Esses cálculos indicam a não correlação entre Pressão de Vazão Gástrica e ganho ponderal no período estudado.

Os valores médios observados corrigidos no dia 1 e 28 para a Pressão de Vazão Gástrica podem ser comparados na figura 20.

Figura 20. Valores médios observados para a Pressão de Vazão Gástrica em dois momentos distintos (n=14)



* Teste t de *Student* (amostras pareadas) realizado em dados corrigidos pelo peso do animal : $t = 2,72$; $gl = 13$; $p = 0,017$ PVG = Pressão de Vazão Gástrica

Através do teste t de *Student* (amostras pareadas) para as pressões de vazão corrigidas obtidas, chegou-se a um t calculado de 2,72 com $p = 0,017$. Pela comparação realizada entre os valores de Pressão de Vazão Gástrica obtidos no dia 1 e 28, observou-se que existiu diferença estatisticamente significativa entre os valores pré e pós-implante e que a PVG aumentou.

9.2.3 VOLUME DE VAZÃO GÁSTRICO (VVG)

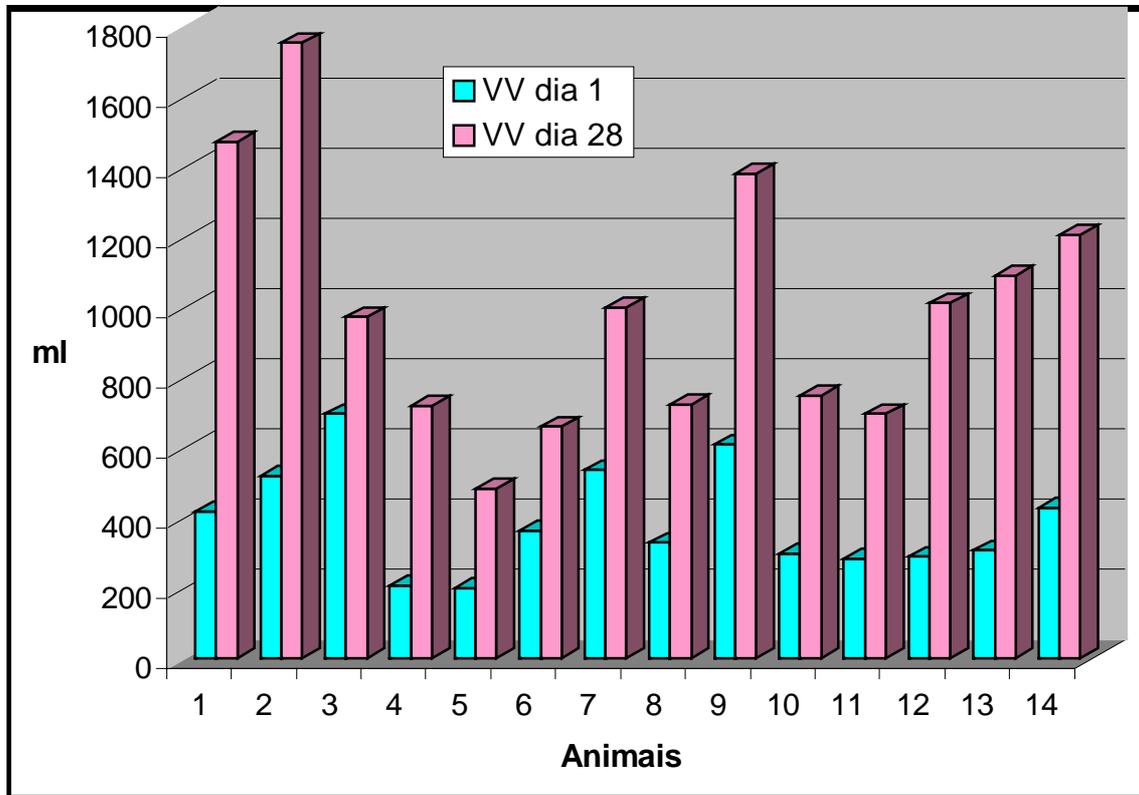
Os valores obtidos para os Volumes de Vazão Gástricos nos dias 1 e 28 para cada animal, juntamente com as médias e desvio padrão para cada momento distinto podem ser observados na tabela 7 e na figura 21 pode-se comparar graficamente os VVGs obtidos nos dias 1 e 28.

Tabela 7. Valores individuais e médias do Volume de Vazão Gástrico em dois momentos distintos (n = 14)

Animal	VVG (ml)	
	dia 1	dia 28
1	420,00	1475,00
2	520,00	1758,00
3	698,00	975,00
4	208,00	722,00
5	200,00	485,00
6	365,00	662,00
7	538,00	1002,00
8	330,00	725,00
9	610,00	1385,00
10	298,00	750,00
11	285,00	698,00
12	290,00	1015,00
13	308,00	1092,00
14	430,00	1210,00
Média ± dp	392,86 ± 150,41	996,71 ± 360,32

VVG = Volume de Vazão Gástrico dp = Desvio Padrão

Figura 21. Gráfico dos Volumes de Vazão Gástricos obtidos em momentos distintos para cada animal (n = 14)



VV = Volume de Vazão Gástrico

Baseando-se nas explicações expostas no item ANÁLISE ESTATÍSTICA, os valores obtidos para o Volume de Vazão Gástrico foram transformados em logaritmo na base n. Em seguida, utilizando-se uma regressão linear do tipo: $\ln(VVG) = a + b(\text{peso})$, os valores dos logaritmos foram calculados em função do peso e obteve-se uma reta. Para os dados obtidos no dia 1 : $r=0,57$ e $p=0,03$, onde r é o coeficiente de correlação. E para os dados obtidos no dia 28 : $r=0,53$ e $p=0,05$.

A estes cálculos, seguiu-se a correção dos valores de $\log(VVG)$ pelo peso dos animais utilizando-se:

$$Y \text{ corrigido} = \bar{Y} + (Y \text{ observado} - \hat{Y}), \text{ onde:}$$

\bar{Y} = valor médio do Volume de Vazão Gástrico, expresso em log;

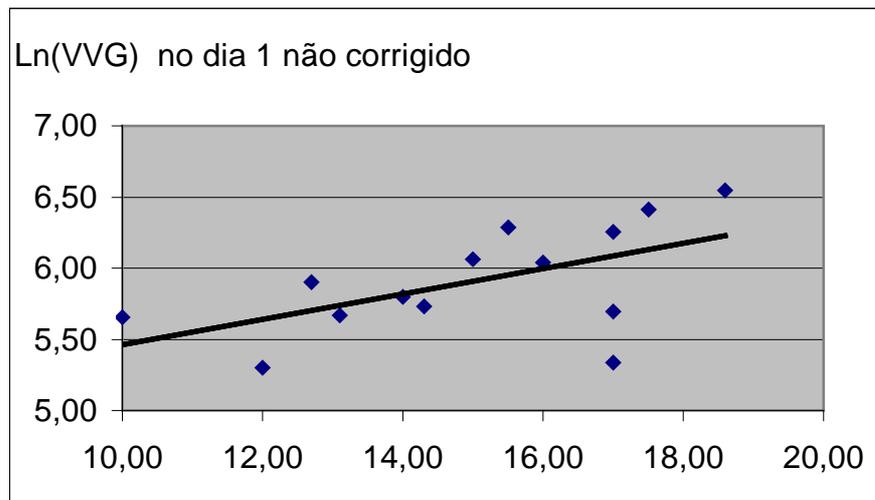
$Y \text{ observado}$ = valor do Volume de Vazão Gástrico expresso em log;

\hat{Y} = valor calculado pela equação da reta

Corrigindo-se os valores do VVG, em logaritmo, pelos pesos dos animais, obteve-se uma reta, tanto para o dia 1 quanto para o dia 28. Nos dois momentos distintos, não houve correlação entre o aumento de peso e o volume de vazão corrigido ($p > 0,05$).

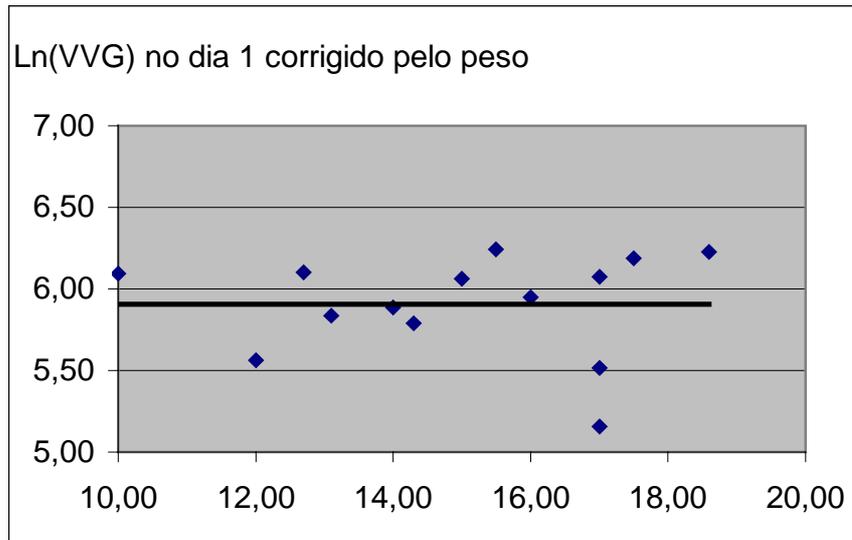
Na figura 22 observa-se o $\ln(\text{VV})$ no dia 1 versus peso do animal no dia 1 e na figura 23, $\ln(\text{VV})$ no dia 1 corrigido versus peso do animal no dia 1. Nas figuras 24 e 25, os mesmos gráficos são mostrados para o dia 28.

Figura 22. Gráfico do $\ln(\text{VVG})$ dia 1 X peso do animal dia 1 (n=14)



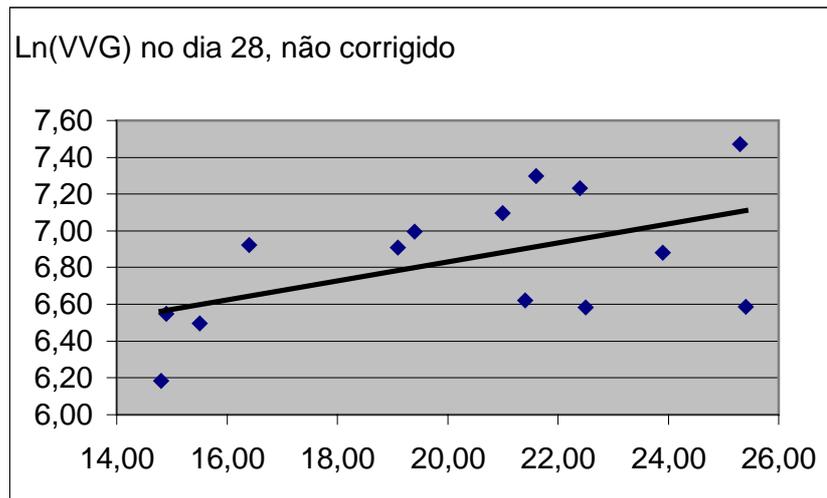
Equação da reta: $\ln(\text{VVG}) \text{ dia } 1 = 4,5752 + 0,0889 (\text{peso dia } 1)$ $r = 0,5685$ $p = 0,034$
 Ln = logaritmo VVG = Volume de Vazão Gástrico

Figura 23. Gráfico do ln(VVG) dia 1 corrigido X peso (n=14)



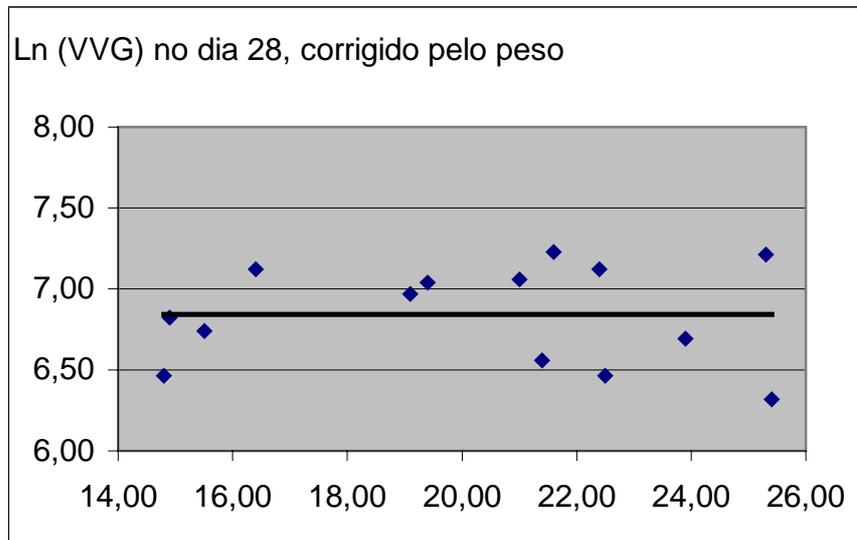
Equação da reta: $\ln(\text{VVG}) \text{ dia } 1 = 5,9066 + 0,000002 (\text{peso dia } 1)$ $r = 0,0001$ $p > 0,999$
 Ln = logaritmo VVG = Volume de Vazão Gástrico

Figura 24. Gráfico do ln(VVG) dia 28 X peso (n=14)



Equação da reta: $\ln(\text{VVG}) \text{ dia } 28 = 5,8000 + 0,0516 (\text{peso dia } 28)$ $r = 0,5288$ $p = 0,052$
 Ln = logaritmo VVG = Volume de Vazão Gástrico

Figura 25. Gráfico do ln(VVG) dia 28 corrigido X peso (n=14)

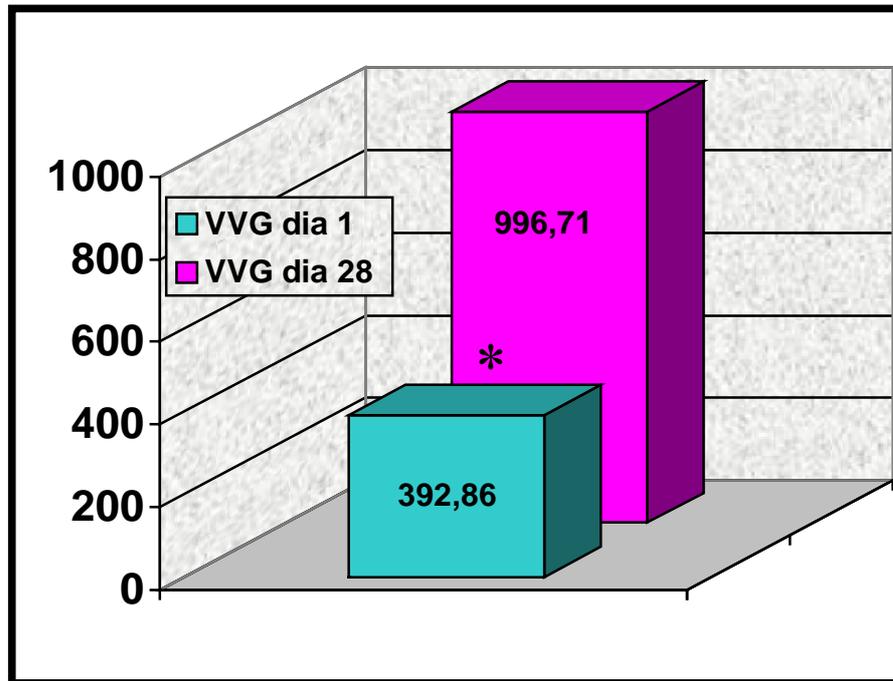


Equação da reta: $\ln(\text{VVG}) \text{ dia } 28 = 6,8448 + 0,000002 (\text{peso dia } 28)$ $r = 0,0001$ $p > 0,999$
 Ln = logaritmo VVG = volume de vazão

Os valores médios observados (\pm desvio padrão) no dia 1 e 28 para o Volume de Vazão Gástrico podem ser comparados na figura 26.

Utilizando-se o teste t de *Student* (amostras pareadas) para os volumes de vazão obtidos, tendo-se em mente que os valores analisados foram \log transformados e corrigidos pelo peso, obteve-se $t=11,66$ com $p < 0,001$.

Figura 26. Valores médios observados para o Volume de Vazão Gástrico em dois momentos distintos (n=14)



Teste t de Student (amostras pareadas), realizado em dados \log transformados e corrigidos pelo peso do animal: $t = 11,66$; $gl = 13$; $p < 0,001$
 VVG = Volume de Vazão Gástrico

Os resultados apresentados confirmam que o volume de vazão pós-implante foi maior do que o volume pré-implante em todos os animais, sendo que essa diferença foi estatisticamente significativa e não dependente do ganho ponderal no período de experimento.

9.2.4. MANOMETRIA DO ESFÍNCTER ESOFÁGICO INFERIOR (EEI)

As médias obtidas à manometria esofágica para o EEI nos dias 1 e 28 estão descritas na tabela 8.

Tabela 8. Valores manométricos para o Esfíncter Esofágico Inferior (EEI) (n=14)

Parâmetros	Média ± dp	
	Dia 1	Dia 28
Pressão Basal do EEI (mmHg)	23,38 ± 11,53	21,56± 10,66
Extensão do EEI (cm)	4,70± 1,51	5,28± 1,51

dp = desvio padrão

Através do teste t de *Student* para amostras pareadas as médias para cada um dos parâmetros estudados para o EEI foram comparadas. Os resultados podem ser analisados na tabela 9.

Tabela 9. Esfíncter Esofágico Inferior: Comparação em dois momentos distintos dos parâmetros estudados à manometria esofágica (n=14)

Parâmetros	t	gl *	p**
Pressão Basal do EEI (mmHg)	0,59	13	0,56
Extensão do EEI (cm)	1,57	13	0,14

* gl = graus de liberdade **Teste t de *Student*

Os resultados revelaram que, ou houve um incremento muito discreto ou não houve incremento nos parâmetros estudados para o EEI após o implante endoscópico de PMMA. Mesmo esse aumento discreto quando comparado com os valores iniciais, não revelaram diferença estatisticamente significativa.

A endoscopia realizada no dia 28 que tinha como objetivo avaliar o local do implante, não logrou êxito em encontrar indícios do implante realizado, a não ser em um único local em um único animal no qual se observou uma elevação umbelicada, provavelmente, decorrente do implante uma vez que era situada na mesma posição.

9.2.5. DESCRIÇÃO DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS PÓS-IMPLANTE DO POLIMETILMETACRILATO

A anatomia da junção esofagogástrica dos suínos estudados revelou algumas diferenças quando comparado com seres humanos. Existe uma estrutura anatômica similar a um “divertículo subdiafragmático” no fundo gástrico desses animais e, na junção escamocolunar, observam-se papilas nodulares proeminentes (Figura 27). Na figura 28 pode-se observar a histologia da junção esofagogástrica

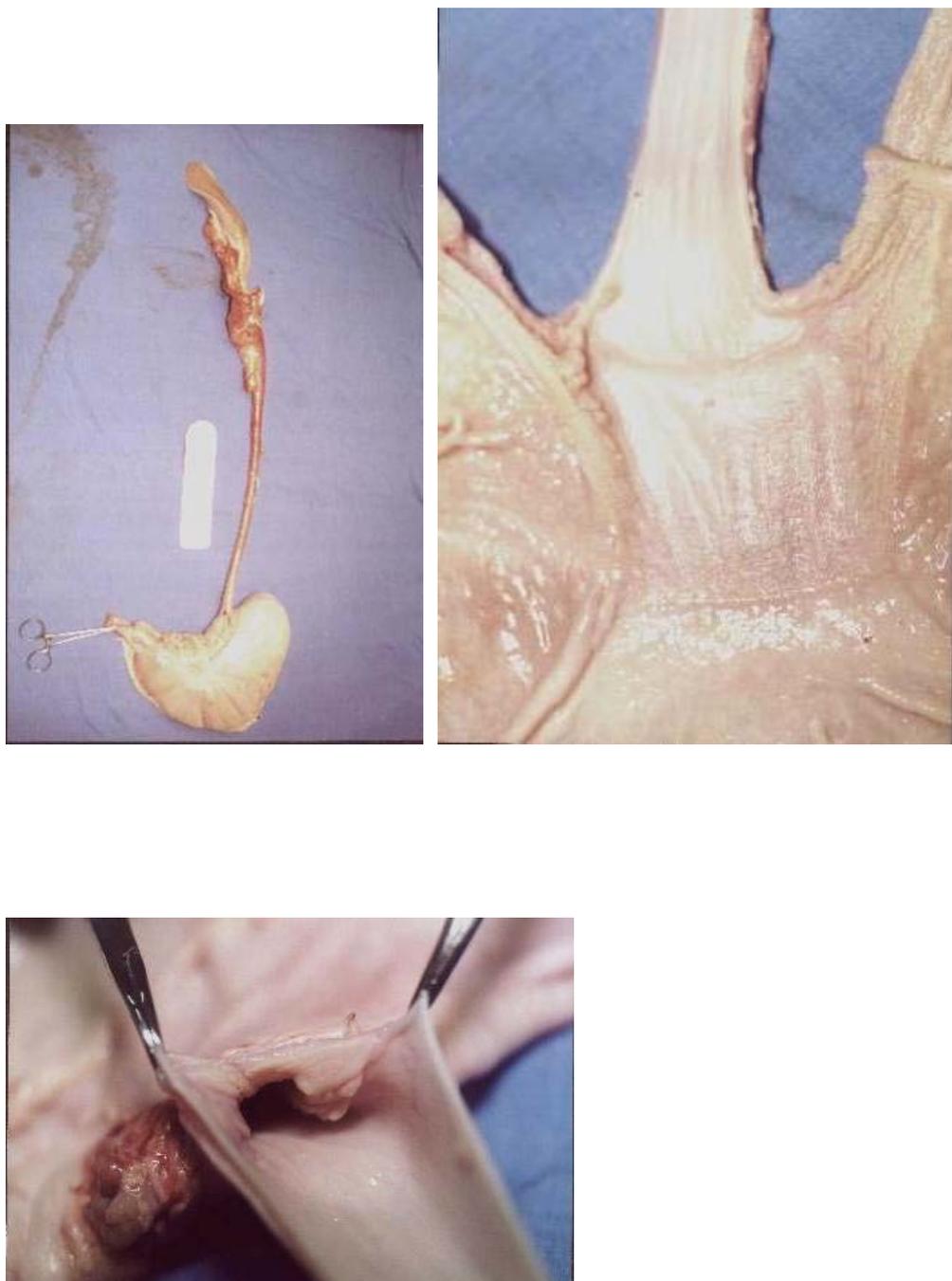


Figura 27. Anatomia macroscópica esofágica e da transição esofagogástrica

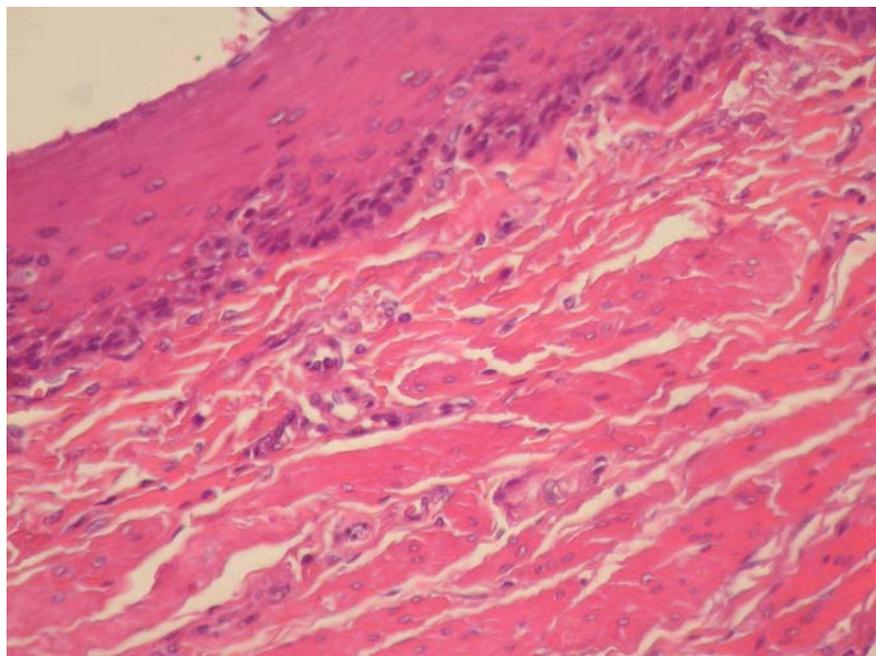


Figura 28. Histologia normal esofágica

Os achados da histologia do local do implante de PMMA em cada animal do experimento estão no Anexo IV. Na tabela 10 esses achados estão sintetizados em quatro grupos quanto a: 1. presença de depósitos de material implantado; 2. presença de células representativas de processo inflamatório e 3. evidência de fibrose tecidual segundo os laudos anatomopatológicos.

Tabela 10. Identificação de achados ao exame Histopatológico (n = 14)

Achados Histopatológicos	Animais (%) (n = 14)
Depósito de material implantado	14 (100%)
Processo Inflamatório Crônico	14 (100%)
Fibrose	6 (42,85%)

Nas peças anatômicas estudadas, PMMA sempre esteve presente (figura 29). O material foi encontrado tanto em submucosa como em muscular e serosa, esta última na porção abdominal do esôfago.

Diferentemente da literatura, observou-se processo inflamatório em todos os animais com presença de histiócitos, plasmócitos, macrófagos vacuolizados e células gigantes tipo Langhans. Fibrose foi um achado importante, porém não tão freqüente.

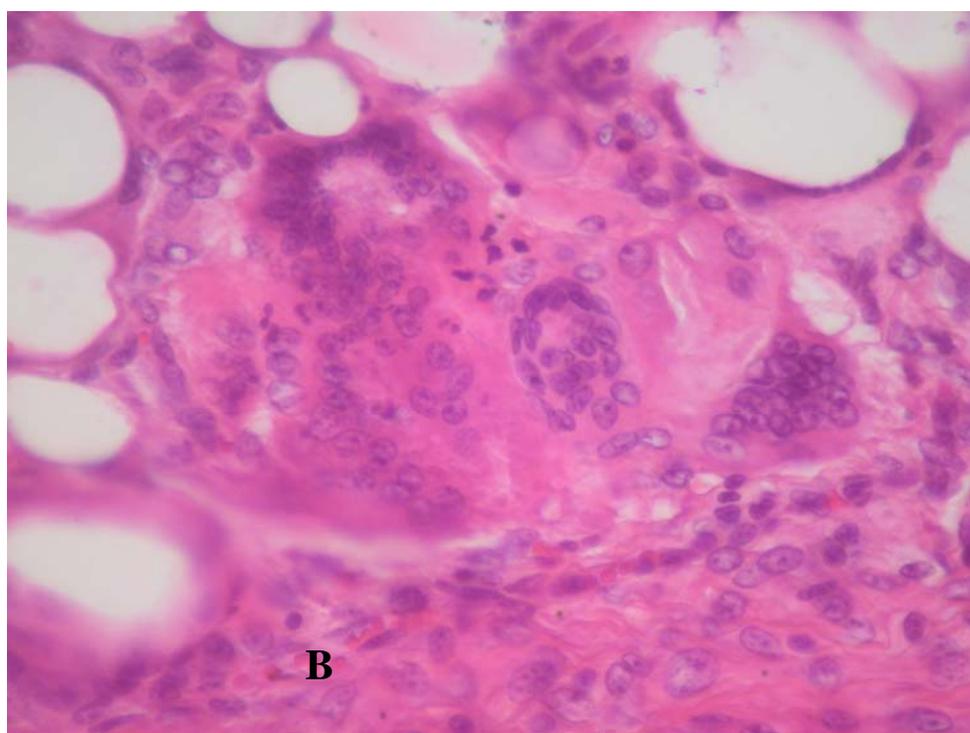
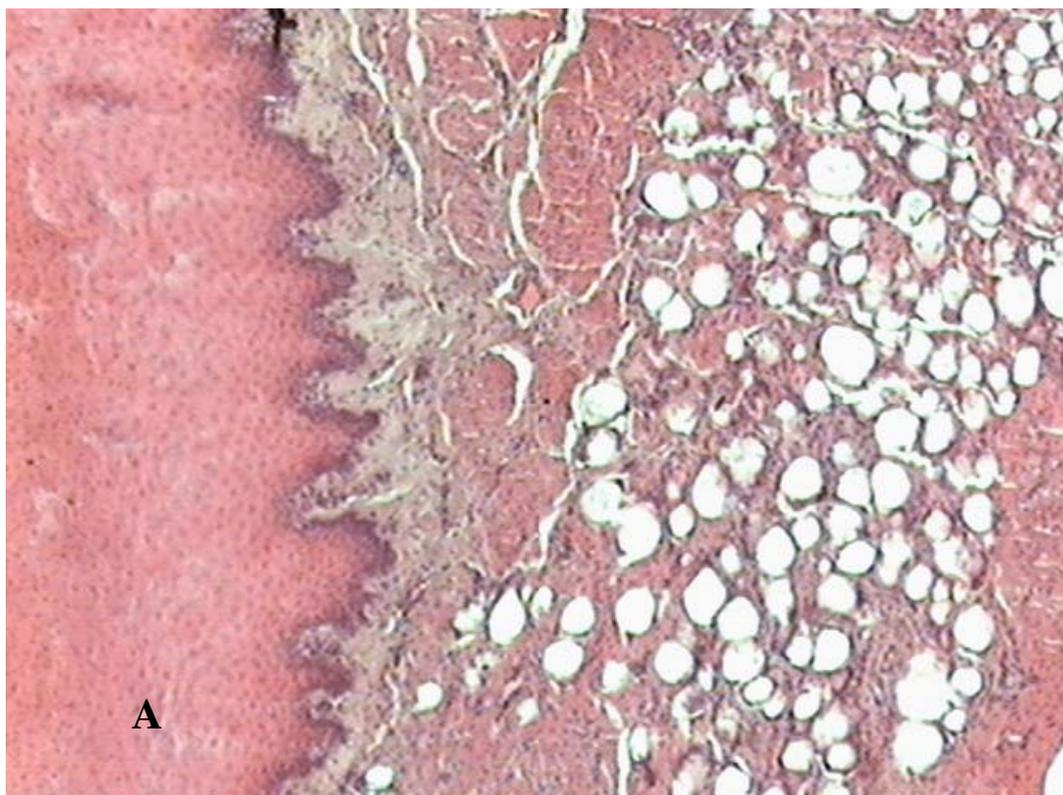


Figura 29.A. Depósito de PMMA na camada muscular do esôfago. B. Reação de células gigantes contíguos ao depósito de PMMA

10. DISCUSSÃO

10.1 MODELO EXPERIMENTAL

O desenvolvimento de um modelo animal para o estudo do refluxo gastroesofágico no Laboratório de Motilidade Digestiva Experimental mostrou-se um desafio aos autores.

Optou-se por um modelo suíno, tanto pela anatomia esofagogástrica e pelas dimensões esofágicas semelhantes às humanas permitindo fácil acesso endoscópico, quanto pela recente descrição de refluxo gastroesofágico ácido espontâneo observado por Kadirkamanathan et al. em suínos da raça Large White (53). A dificuldade anestésica quando se optou pelo uso do halotano, foi um sério problema enfrentado pela equipe. Quando se solucionou esta dificuldade, surgiu a infecção sistêmica da tunelização realizada no tecido celular subcutâneo nasal para a passagem do cateter e manutenção do pHmetro. Finalmente, vencidas essas dificuldades iniciais, o Projeto Piloto: Esofagostomia foi realizado para confirmar, no nosso laboratório, a presença de refluxo gastroesofágico e testar a reprodutibilidade daqueles dados obtidos. A presença de refluxo espontâneo, entretanto, não foi observada nos animais estudados.

Como não foi possível verificar refluxo gastroesofágico espontâneo, consistente, nos animais, decidiu-se pelo desenvolvimento de um modelo experimental aonde uma intervenção que levasse ao aumento da pressão e do volume intragástricos pudesse testar a eficácia do EEI e da “barreira anti-refluxo”. Escolheu-se, para isso, infundir um volume controlado de líquido com pH ácido, previamente determinado, através de gastrostomia percutânea com medida da pressão e volume intragástricos necessários para induzir “vazão” ou refluxo gastroesofágico. Desenvolveu-se, para tanto, um equipamento em conjunto com os engenheiros do Serviço de Bioengenharia do HCPA para infusão contínua e controlada de líquidos no estômago com monitorização simultâneas do volume infundido, da pressão intragástrica e da acidez esofágica para determinar o momento da “vazão” com indução de refluxo. Optou-se, como via de acesso, pela realização de uma gastrostomia com introdução de uma sonda de Foley, conectando-se a mesma ao equipamento acima descrito. Com essa técnica obteve-se um modelo animal reproduzível baseado na Pressão e Volume de Vazão Gástricos para o estudo do refluxo gastroesofágico. Esse modelo possibilitou que, com uma intervenção cirúrgica com baixo risco operatório e com um tempo relativamente reduzido de experimento, três variáveis (Pressão de Vazão Gástrica, Volume de Vazão Gástrico e Pressão Basal do Esfíncter Esofágico Inferior) pudessem ser medidas com precisão antes e após o implante endoscópico

de PMMA, observando-se seu efeito na junção esofagogástrica. O modelo foi testado através do Projeto Piloto: Gastrostomia, para reprodutibilidade dos valores obtidos, logrando-se sucesso.

Em 1988, McGouran et al. (81) pesquisavam a Pressão de Vazão Gástrica em seres humanos obtida por infusão de líquidos através de endoscopia e concluiu que esse exame fornecia informações que poderiam permitir o estudo do conceito de “barreira anti-refluxo” de modo mais abrangente, incluindo-se também a pressão do EEI. A pressão de vazão não sofreu influência, nessa pesquisa, do sexo, idade, peso ou sedação utilizada e foi reproduzível. O mecanismo pelo qual a cárdia é forçada a abrir em resposta à distensão gástrica ainda não está totalmente esclarecido. Ismail reforça em sua publicação (46) a importante associação entre a distensão gástrica e a diminuição da pressão do EEI, existindo uma regressão linear negativa entre as pressões do fundo gástrico e do EEI demonstrada por Muller-Lisner e Blum (87). Os autores, entretanto, comentaram que os fatores envolvidos talvez fossem mecânicos.

A distensão gástrica foi crescentemente reconhecida como um potente desencadeante do RtEEI com conseqüente aumento da freqüência de relaxamentos transitórios do EEI no período pós-prandial (46).

Pode-se especular que o mecanismo que determinou a Pressão de Vazão Gástrica com a abertura da “barreira anti-refluxo” no presente estudo, provavelmente, foi desencadeado pela distensão gástrica talvez alterando o ângulo de His ou ainda desencadeando o RtEEI ou por ambos.

10.2 VIESES POSSÍVEIS NO MODELO DESENVOLVIDO

A possível associação entre gastrostomia e o desenvolvimento subsequente de DRGE tem sido mencionada na literatura. Sullivan comenta que há 20 anos era prática comum a realização de cirurgia anti-refluxo em caráter profilático quando realizava-se gastrostomia por qualquer razão. Contudo com o advento da gastrostomia endoscópica a cirurgia anti-refluxo, rapidamente, foi abandonada (117). Essa associação tem sido especulada tanto para a gastrostomia via laparoscópica como para a endoscópica percutânea, entretanto, duas publicações recentes demonstraram que gastrostomia percutânea não induziu o desenvolvimento de refluxo gastroesofágico naqueles estudos (104, 110).

No presente experimento, caso houvesse indução de refluxo gastroesofágico pela gastrostomia, isso reforçaria o propósito do modelo que é, exatamente, induzir refluxo.

Outro possível viés que foi solucionado com o modelo animal desenvolvido relaciona-se à passagem de um cateter através do EEI para estudar o refluxo gastroesofágico. A influência do diâmetro de cateteres de manometria nos resultados obtidos para medida das pressões do EEI já foi estudada, concluindo-se que quanto maior o diâmetro do cateter, maior a amplitude das ondas peristálticas e maior a pressão registrada no EEI. Esse fenômeno pode ser explicado pela característica comprimento-tensão do músculo esofágico: maior estiramento causa maior força de contração (57, 71). Se o objetivo é verificar a competência da “barreira anti-refluxo” que abrange a pressão do EEI para induzir o refluxo gastroesofágico e estudar o efeito de uma intervenção, como, por exemplo, um implante endoscópico, o ideal seria não interferir no segmento correspondente desse esfíncter. Alguns autores utilizaram a PVG como parâmetro de eficiência de tratamentos endoscópicos, porém influenciaram, provavelmente, as pressões obtidas no EEI. Mason et al. (78), para verificar a eficácia do Enteryx® no controle do refluxo gastroesofágico, também utilizaram a pressão de vazão infundindo no estômago dióxido de carbono através do canal central do cateter de manometria cuja extremidade distal atravessava o EEI e estava localizada no estômago. O mesmo foi repetido com água insuflando-se o estômago. A existência de um cateter através do EEI que, justamente é a barreira para o evento refluxo, pode ter influenciado nos achados. Utley et al. (128), através de um endoscópio localizado 10 cm acima do EEI, verificavam a regurgitação de líquido infundido através do cateter de manometria instalado no estômago por uma gastrostomia. O’Connor et al. (92) também utilizaram esse mesmo princípio. Sabe-se que o endoscópio apresenta um diâmetro entre 9 e 12 mm e, ao passar através do esfíncter esofágico superior e do corpo esofágico pode induzir alteração na fisiologia do órgão.

O modelo utilizado no presente experimento diminuiria a influência dos cateteres no EEI, uma vez que mantém a região do EEI intacta. Ainda, evita também a formação de cavidade comum com o duodeno por ocluir o piloro e evitar escape de líquido infundido, podendo gerar um viés no VVG.

O modelo experimental desenvolvido possibilitou o estudo da “barreira anti-refluxo” através da Pressão de Vazão e Volume de Vazão Gástricos, solucionando possíveis vieses como escape do líquido infundido através do piloro e alteração da pressão do EEI por

passagem transesfínctérica do cateter. Uma vez vencido o desafio em desenvolver um modelo animal, o estudo do implante endoscópico foi factível.

10.3 IMPLANTE DE POLIMETILMETACRILATO

Observou-se, no decorrer da elaboração desta tese de doutorado, nos últimos dois anos, um aumento muito importante de artigos referentes ao tratamento endoscópico da DRGE. Atualmente, várias técnicas endoscópicas têm sido desenvolvidas para aumentar a “barreira anti-refluxo” na junção esofagogástrica (85). Pode-se dividir estas técnicas em três grupos: aplicação de energia de radiofrequência; suturas endoscópicas e implantes endoscópicos (26). Somente em 2003, vários artigos originais e mais de 11 artigos de revisões dessa terapêutica foram publicados. Essas revisões são unânimes em comentar que os procedimentos endoscópicos podem ter um futuro promissor necessitando, contudo, de maiores investigações incluindo-se: 1. estudos comparativos com as terapêuticas vigentes e entre diferentes tratamentos endoscópicos; 2. acompanhamento a longo prazo com impacto na qualidade de vida; 3. refinamento das técnicas empregadas; 4. avaliação do impacto nos programas de treinamentos formais com decréscimo na curva de aprendizado e 5. relação custo-benefício (27).

As técnicas endoscópicas e os diferentes materiais para implante no esôfago começaram a ser estudadas na década de 1980, com retomada recente após longa interrupção, entretanto, resultados em não mais do que 500 pacientes estão publicados (65). O tratamento ideal deveria ser aquele que proporcionasse aumento da pressão do EEI e/ou redução do número de RtEEI, acelerasse o clareamento esofágico e o esvaziamento gástrico, aumentasse a resistência da mucosa e neutralizasse a acidez gástrica. Atualmente nenhum método utilizado, quer clínica ou experimentalmente, atinge todos esses aspectos (55).

No Brasil não há documentação a respeito da utilização dessas técnicas terapêuticas endoscópicas. Apesar dos relatos de tratamentos endoscópicos em modelos animais e da sua liberação para uso em seres humanos, em outros países, há ainda a necessidade de investigação experimental de diferentes materiais para implante endoscópico, por períodos mais prolongados, antes da autorização pelos órgãos de vigilância sanitária (Agência Nacional de Controle Sanitário, no Brasil) para aplicação em seres humanos. Quando se pesquisou qual seria o material ideal para a utilização no presente estudo, os fatores mais importantes foram a

sua disponibilidade e/ou seu custo econômico. O Enteryx® tornou-se inviável porque, além de ser restrito pela fabricante (Boston Scientific, EUA) a poucos grupos de pesquisa selecionados, o seu alto valor inicial dificultava a sua utilização. O Enteryx® é um material que se aproxima de um material ideal para implante esofágico. Contudo, o seu custo é muito elevado podendo chegar até a US\$ 3000,00 por paciente (19).

O PMMA tornou-se a melhor opção para o presente estudo uma vez que é fabricado no Brasil e tem custo muito inferior, US\$ 170,00 por cada seringa de 3 ml, suficiente para cada experimento e tem sido utilizado, para outros propósitos, em seres humanos por décadas.

Dificuldades ocorreram durante a realização do experimento, algumas já citadas no capítulo Material e Métodos, como a sucessiva perda de animais pelo tipo de anestesia e também a manutenção de um pHmetro 24 horas na região lombar dos animais e a frustrante não identificação de refluxo gastroesofágico espontâneo nos suínos estudados no Projeto Piloto: Esofagostomia no Laboratório do Centro de Pesquisas. O crescimento do animal foi uma das dificuldades encontrada na etapa do Experimento propriamente dito. Contudo, o principal obstáculo encontrado foi como implantar o PMMA através de um cateter introduzido pelo canal de biópsia de um endoscópio convencional. Esse material apresenta uma viscosidade muito elevada. Um exame analítico da viscosidade do PMMA solicitado pela BioMedical Ind. Com. de Produtos Biomédicos Ltda. e realizado pela Pró Ambiente Análises Químicas e Toxicológicas (Porto Alegre, RS) revelou que o PMMA a 3% (utilizado na pesquisa) apresenta uma viscosidade de 209.000 cP (centipoise). Isto faz com que ocorra grande resistência ao seu deslizamento através de cateteres com pequenos diâmetros internos como os utilizados na prática endoscópica rotineira. Os cateteres convencionais de endoscopia digestiva alta, por serem muito extensos e possuírem um diâmetro interno diminuto (< 3mm), não permitiram a passagem do material. Houve tentativas de se utilizar um cateter de diâmetro maior, mas a extensão do cateter necessária para vencer a extensão e atingir a extremidade do endoscópio, aproximadamente 120 cm, dificultava a progressão do PMMA levando, durante a injeção pela pistola dosadora volumétrica, a escape de material retrogradamente, através da seringa e, às vezes, implodindo o cateter ou a seringa. Uma vez que cateteres com menor extensão e maior calibre interno não seriam compatíveis com o endoscópio convencional disponível, desenvolveu-se um sistema com um Tubo Introdutor metálico, rígido, com 54 cm de extensão cuja extremidade distal era levemente angulada facilitando a introdução do cateter com agulha com 70 cm de extensão para injeção do PMMA. Com o Tubo Introdutor

assegurou-se um acesso à injeção de PMMA com visualização da junção esofagogástrica em paralelo pelo endoscópio, chegando-se a qualquer ponto da parede do órgão com facilidade. A passagem simultânea do endoscópio com o tubo introdutor na luz do esôfago apresentou discreta dificuldade inicial, mas, progressivamente, mais fácil conforme os autores adquiriram experiência.

O único estudo utilizando PMMA como implante em seres humanos é o de Feretis et al. (28) no qual foi implantado através de um retossigmoidoscópio, justamente por apresentar uma extensão menor em relação ao endoscópio convencional e possuir um canal de biópsia calibroso que permitia a passagem de um cateter para implante mais calibroso, contudo na publicação, não foi mencionado o seu diâmetro, somente as dimensões da agulha distal: 4 mm de extensão e 21 gauge. Talvez essa seja uma solução para a utilização desse implante em seres humanos.

O polimetilmetacrilato é um material utilizado na medicina há mais de 50 anos, em ortopedia, odontologia, oftalmologia e, mais recentemente, em cirurgia plástica. Pelo tamanho das microesferas de PMMA, a fagocitose do material inoculado é relatada como muito pequena não ocorrendo migração e permanecendo, definitivamente, no local implantado, respondendo satisfatoriamente a vários dos critérios de material ideal para implante. No tratamento endoscópico da DRGE em seres humanos, dados sobre o PMMA implantado na submucosa da junção esofagogástrica foram publicados por um único grupo em Atenas, Grécia, em 2001 (28). Os autores concluíram que o implante desse material obteve sucesso no controle dos sintomas do refluxo, em dez indivíduos estudados, porém, à pHmetria esofágica prolongada, apesar da porcentagem total de tempo em que o pH permaneceu abaixo de 4 ter diminuído significativamente, não houve normalização. O acompanhamento dos pacientes variou entre 4 a 6 meses.

10.4 PRESSÃO DE VAZÃO GÁSTRICA (PVG), VOLUME DE VAZÃO GÁSTRICA (VVG) E PRESSÃO BASAL DO EEI

A Pressão de Vazão Gástrica corrigida, tanto pré quanto pós-implante, pelos cálculos realizados foram independentes do aumento ponderal dos animais.

Existiu um aumento do valor médio obtido para a Pressão de Vazão Gástrica no dia 28 em relação ao dia 1 (10,69 mmHg e 8,08 mmHg, respectivamente) e essa diferença foi

estatisticamente significativa ($p = 0,017$) provavelmente por um aumento da “barreira anti-refluxo”. Contudo, essa variável não aumentou uniformemente em todos os animais pós-implante. Pode-se especular que com o ganho ponderal dos animais, talvez fosse necessário implantar um maior volume de PMMA para um efeito mais nítido. O receio de complicações como obstrução de luz esofágica e maior risco de perfuração levaram os pesquisadores a uma intervenção com cautela.

No presente estudo, os valores do Volume de Vazão Gástrico não obedeceram a uma distribuição gaussiana apresentando uma assimetria à direita. Quando a distribuição das variáveis não obedece a um padrão gaussiano, com distribuição claramente assimétrica seria inadequado utilizar um modelo de curva normal para análise estatística e esperar conclusões confiáveis. Foi necessário, então, procurar outro modelo que se adapte melhor aos dados observados ou então tentar transformações que tornem suas distribuições mais próximas do normal, quando então, o teste utilizado para valores que obedecem uma curva normal de distribuição seria mais poderoso. É o caso da \log transformação (47). Optou-se, portanto, pela transformação dos dados do Volume de Vazão Gástrico em logaritmo na base n .

O Volume de Vazão Gástrico aumentou muito em todos os animais estudados, mesmo quando não houve um aumento muito importante da Pressão de Vazão Gástrica. Isto poderia ser devido ao aumento de tamanho dos animais com conseqüente aumento do volume intragástrico. O Volume de Vazão Gástrico foi, então, corrigido em função do peso do animal, obtendo-se com isto valores previsíveis do VVG mesmo quando o peso corporal aumentasse. Uma vez que os valores analisados não eram mais influenciados pelo aumento do peso do animal, esse aumento estatisticamente significativo, provavelmente foi devido ao implante do PMMA.

Quando se observaram as variáveis obtidas pela manometria no EEI (pressão basal do EEI e comprimento do EEI) verificou-se que a média do primeiro parâmetro citado apresentou uma diminuição do dia 1 para o dia 28 (23,38 mmHg e 21,56 mmHg respectivamente) e os demais parâmetros não apresentaram diferença estatisticamente significativa. Novamente, cita-se o aumento de tamanho dos animais como um possível fator adverso importante no desejado aumento nas pressões do EEI. Na revisão endoscópica do implante, observou-se que a distância da junção esofagogástrica em relação à arcada dentária do animal tinha se modificado, estando, em média 3 a 4 cm mais distante da arcada dentária do que no primeiro exame, provavelmente refletindo um aumento na extensão do esôfago nos

animais estudados. Não foi possível a verificação do relaxamento do EEI e mensuração da pressão residual pós-deglutição porque alguns animais, a despeito do tipo de anestesia realizada, que possibilitava a manutenção dos reflexos, não apresentaram deglutição espontânea durante a avaliação do EEI ou apresentaram apenas uma deglutição ocasional durante o período do exame. Houve tentativas de oferta de água via oral para os animais deglutirem, mas não se logrou sucesso.

O mecanismo pelo qual o implante de PMMA ou do Enteryx® aumentaria a "barreira anti-refluxo" e a sua eficácia não está estabelecido. Alguns estudos que avaliaram os resultados dos tratamentos endoscópicos com diferentes materiais não encontraram aumento na pressão basal do EEI pós-procedimento (50, 76, 78). Uma vez que o implante é um material denso e que permanece na junção esofagogástrica, aonde foi injetado, teoricamente com fibrose associada, poder-se-ia especular que possa haver um "endurecimento" nesse segmento com diminuição da complacência na junção esofagogástrica.

Como já foi discutido, a distensão gástrica pode, aparentemente, desencadear o RtEEI. Isto porque a tensão da parede gástrica tracionaria a junção esofagogástrica com uma modificação da geometria da cárdia (81). Isto levaria então a um encurtamento do EEI até ao ponto em que a pressão do esfíncter cai subitamente, permitindo refluxo gastroesofágico. Em teoria a diminuição da complacência causada pelo implante de PMMA, pode interromper esse processo porque preveniria o encurtamento do EEI que se segue à distensão gástrica. Esse é o mecanismo sugerido para os resultados após o implante de Enteryx® (70).

10.5 HISTOLOGIA

Um fato muito importante foi a identificação, em todos os animais, do material implantado, quer na submucosa, quer na camada muscular ou serosa (na porção abdominal do esôfago) e não houve evidências de PMMA extra-esofágico exceto no caso relatado de perfuração esofágica e óbito pós experimento. Na literatura os achados principais relacionados ao implante de PMMA são fibrose e um discreto processo inflamatório (4), observando-se poucas células gigantes de Langhans. No presente estudo, processo inflamatório crônico com histiócitos, plasmócitos e macrófagos vacuolizados também foram achados constantes, bem como a presença de células gigantes. Esses achados estiveram presentes em todos os animais. Comparando-se com a literatura, esse processo inflamatório

encontrado foi mais intenso do que o descrito normalmente, reforçando a necessidade de mais cautela para a utilização de PMMA em seres humanos.

A fibrose que tem papel fundamental para a diminuição da complacência tecidual causada pelo PMMA, esteve presente, porém em menos da metade dos animais. Vacúolos do implante foram identificados no interior de macrófagos, provavelmente, representando fagocitose. Há a necessidade de um acompanhamento maior após o implante de PMMA, por exemplo, 12 a 24 meses, para se observar outras variáveis, como a permanência e/ou migração do material implantado.

A análise histológica do local de implante do Enteryx® revelou que o material manteve-se no local após um ano de seguimento, mas estudos têm sugerido que pode existir perda do implante, provavelmente devida à injeção superficial. Foram encontradas microcalcificações ao redor do material implantado em modelos animais (130).

O modelo animal desenvolvido neste experimento oferece alguns atrativos para a pesquisa dessa doença porque abre oportunidade para a pesquisa da DRGE e seus mecanismos fisiopatológicos, no nosso meio. Desenvolveu-se um modelo experimental em animais de porte médio para o estudo da DRGE, no nosso meio, elaborando-se um equipamento através do Serviço de Bioengenharia do HCPA que permitiu uma monitorização contínua e simultânea da Pressão e Volume de Vazão Gástricos durante a infusão de líquidos no estômago, inclusive com uma curva reproduzível dessas duas variáveis (Anexo III), com isto houve a possibilidade de mensuração concomitante do pH esofágico, da Pressão de Vazão Gástrica e do Volume de Vazão Gástrico. Esse modelo também excluiu fatores que gerariam viés para a mensuração da Pressão de Vazão Gástrica, como a não obstrução da luz do piloro com provável escape para o duodeno do líquido infundido no estômago, como em alguns modelos realizados (78).

Uma possibilidade para contornar o crescimento que os suínos apresentaram seria a utilização dos chamados *mini pigs*. Até o ano passado, esses animais teriam que ser importados o que inviabilizava a utilização no nosso meio (US\$ 800,00 por animal). Recentemente foi desenvolvida, através de seleção genética, uma linhagem de *mini pigs* nacionais denominados *mini.br1*, em Campina do Monte Alegre, SP, pela empresa Minipig Pesquisa & Desenvolvimento. Esses animais são adquiridos a um valor acessível e têm a vantagem de, na fase adulta, pesarem no máximo 50Kg. Contornando-se o problema de crescimento dos animais, o modelo animal desenvolvido pelo grupo pode ser utilizado sem

maiores restrições para acompanhamento do implante de PMMA ou outros materiais por períodos mais longos. Torna-se também factível, viável, o estudo da fisiopatologia da DRGE inclusive utilizando-se esse mesmo modelo animal para investigação do RtEEI, da complacência da junção esofagogástrica ou outras variáveis pré e pós implante.

No presente estudo, o implante de PMMA na região do EEI, a curto prazo, aumentou a barreira anti-refluxo através do aumento da Pressão de Vazão Gástrica e do Volume de Vazão Gástrico mas não de Pressão Basal do EEI.

11. CONCLUSÕES

1. O modelo experimental, em suínos, desenvolvido viabilizou o estudo do Refluxo Gastroesofágico através da Pressão de Vazão Gástrica e Volume de Vazão Gástrico.
2. No presente estudo, o implante de PMMA aumentou a Pressão de Vazão Gástrica e o Volume de Vazão Gástrico, mas não a Pressão Basal do EEI, nem tampouco o seu comprimento.
3. O implante de PMMA foi facilmente visualizado no exame histológico no esôfago distal com presença de histiócitos, plasmócitos e células gigantes tipo Langhans em todos os animais. Fibrose e macrófagos com vacúolos intracelulares do implante foram identificados em menor frequência.

12.ANEXOS

ANEXO I

Perfil do pH pré-operatório dos seis animais utilizados no trabalho

Nº Animal	Média pH Basal (Q25 –Q75)*	Nº total episód refluxo/24 Horas	Mais longo episódio refluxo (min.)	Tempo total pH<4 horas (min)	% tempo pH<4
1	6,9 (5,1 – 7,9)	32	34	100	7,0
2	7,3 (5,9 -8)	19	20	139	9,7
3	6,6 (5,6 – 8,1)	13	70	123	8,9
4	6,6 (5 – 7,4)	19	48	153	11,1
5	6,4 (5 – 7,2)	8	67	86	6,0
6	7,1 (5,6 – 8,1)	19	65	145	10,1

* Q25-Q75, intervalo interquartil. (Traduzido de Kadiramanathan et al. – GUT 1999;44:782-788)

ANEXO II

ANEXO III

Utilização de Animais em Projetos de Pesquisa

Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA

Resolução Normativa 04/97

A Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde credenciada, junto a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Ministério da Saúde, como Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), vinculada ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com o objetivo de estabelecer normas para a utilização de animais em projetos de pesquisa submetidos à apreciação desta Comissão, com base nos princípios e normas internacionalmente aceitas, dispõe que:

- a) a utilização de animais em pesquisas científicas deve ocorrer somente após ser provada a sua relevância para o avanço do conhecimento científico, considerando-se a impossibilidade de utilização de métodos alternativos como: modelos matemáticos; simulações computadorizadas; sistemas biológicos “in vitro” ou outro método adequado;
- b) a espécie utilizada e o cálculo do tamanho da amostra devem ser adequados para a obtenção de resultados válidos;
- c) deve ser oferecido alojamento, transporte, alimentação e cuidados adequados à espécie através de assistência qualificada;
- d) procedimentos que possam causar dor ou angústia devem ser desenvolvidos com sedação, analgesia ou anestesia, salvo quando forem os mesmos o objetivo da pesquisa. Devem ser, igualmente, observados cuidados com assepsia e prevenção de infecções, assim como cuidados para minimizar o desconforto e estresse dos animais em estudo;
- e) necessitando de imobilização física e/ou de privação alimentar ou hídrica, os pesquisadores devem procurar manter estas condições pelo menor período de tempo possível, evitando prolongar a angústia, desconforto e dor;
- f) quando for necessário ao estudo, ou após o mesmo, se indicado, que os animais devam ser sacrificados, este procedimento deve ser realizado de forma rápida indolor e irreversível;
- g) as técnicas aceitas para o sacrifício de animais são as seguintes: hipoxia por barbitúricos, anestésicos inalatórios, dióxido de carbono e monóxido de carbono (engarrafado), metanesulfonato de tricaina, benzocaína e irradiação por microondas;

h) as técnicas aceitas, de forma condicional, são as seguintes: hipoxia por deslocamento cervical, por nitrogênio ou argônio, decapitação, concussão cerebral e dano medular;

i) não serão aceitas, salvo exceções extremamente justificadas, as seguintes técnicas de sacrifício de animais: sangramento, descompressão, congelamento rápido, embolismo gasoso, afogamento, atordoamento, uso isolado de estriquinina, nicotina, sulfato de magnésio, cloreto de potássio, agentes curariformes, clorofórmio e cianeto.

Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA. Resolução Normativa 04/97 - Utilização de Recursos Financeiros em Projetos de Pesquisa. Aprovada na reunião conjunta das Comissões Científica e de Pesquisa e Ética em Saúde de 08 de maio de 1997.

ANEXO IV

Parâmetros normais da pHmetria Esofágica Prolongada em Seres Humanos

Parâmetros	Sensor Distal
Nº total episódios refluxo	nl < 50
Nº de episódios acima de 5 minutos	nl < 3
> episódio refluxo (min.)	nl < 9
% tempo pH<4	nl < 4,2
% tempo com pH < 4 posição ereta	nl < 6,3
% tempo com pH < 4 posição supina	nl < 1,2

(Johnson/ DeMeester, 1974)

ANEXO V

ANEXO V: Variáveis individuais dos animais (n= 14)

Variáveis	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
PVG1	13,00	6,00	7,60	5,20	4,40	9,00	8,40	8,50	11,60	7,10	8,20	7,60	8,00	8,60
PVG28	18,40	20,20	11,10	7,80	3,80	9,00	7,00	9,50	12,40	6,40	10,10	13,10	10,20	10,60
VVG1	420,00	520,00	698,00	208,00	200,00	365,00	538,00	330,00	610,00	298,00	285,00	290,00	308,00	430,00
VVG28	1475,00	11758,00	975,00	722,00	485,00	662,00	1002,00	725,00	1385,00	750,00	698,00	1015,00	1092,00	1210,00
PBEEI 1	6,65	24,31	22,00	21,93	34,49	27,45	27,90	12,01	12,59	12,02	53,15	23,35	27,75	21,77
PBEEI28	28,34	10,49	18,44	28,73	16,30	20,42	23,06	8,29	13,27	9,61	39,46	13,56	31,99	39,91
ExtEEI 1	4,50	4,00	5,50	5,50	2,50	5,00	6,50	3,50	6,00	2,50	7,00	3,00	6,50	4,00
Ext EEI 28	3,50	4,50	5,00	5,00	4,00	5,00	6,00	4,00	9,00	4,50	6,00	6,00	7,50	4,00
Dep PMMA	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim
P. Inf. Cr.	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim
Fibrose	Sim	sim	sim	sim	não	não	não	não	sim	sim	não	não	não	não

PVG1 = Pressão de Vazão dia 1 PVG28 = Pressão de Vazão dia 28 VVG1 = Volume de Vazão dia 1 VVG28 = Pressão de Vazão dia 28
 PBEEI1 = Pressão Basal do EEI dia 1 PBEEI28 = Pressão Basal do EEI dia 28
 Ext EEI1 = Extensão EEI dia 1 ExtEEI 28 = Extensão EEI dia 28 Dep PMMA = Depósito de PMMA
 P. Inf. Cr. = Processo inflamatório crônico

ANEXO VI

13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DRGE - Aumento da incidência da doença preocupa autoridades e população. Vol. 2003: Federação Brasileira de Gastroenterologia, 2003.
2. A Gallup survey on heartburn across America: The Gallup Organization Inc, 1968.
3. Medtronic announces start of U.S. pivotal clinical trial for Gatekeeper reflux repair System endoscopic therapy for GERD designed to reduce acid reflux and heartburn. Vol. 2003, 2003.
4. Uroplastic [folheto explicativo]. Porto alegre, 2003.
5. Alster TS, West TB. Human-derived and new synthetic injectable materials for soft-tissue augmentation: current status and role in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg* 105 (7): 2515-25; discussion 2526-8, 2000.
6. Arnold GE. Vocal rehabilitation of paralytic dysphonia. I. Cartilage injection into a paralyzed vocal cord. *AMA Arch Otolaryngol* 62 (1): 1-17, 1955.
7. Attwood SE, Smyrk TC, DeMeester TR, Mirvish SS, Stein HJ, Hinder RA. Duodeno-esophageal reflux and the development of esophageal adenocarcinoma in rats. *Surgery* 111 (5): 503-10, 1992.
8. Benschushan A, Brzezinski A, Shoshani O, Rojansky N. Periurethral injection for the treatment of urinary incontinence. *Obstet Gynecol Surv* 53 (6): 383-8, 1998.
9. Bernardi C, Favetta U, Pescatori M. Autologous fat injection for treatment of fecal incontinence: manometric and echographic assessment. *Plast Reconstr Surg* 102 (5): 1626-8, 1998.
10. Bielefeldt K, Gupta P, Aggarwal A. Gastroesophageal reflux disease and esophageal motility. Vol. 2003: The University of Iowa, 2001.
11. Bonavina L, DeMeester T, Mason R, Stein HJ, Feussner H, Evander A. Mechanical effect of the Angelchik prosthesis on the competency of the gastric cardia: pathophysiologic implications and surgical perspectives. *Dis Esophagus* 10 (2): 115-8, 1997.
12. Boyle JT, Altschuler SM, Nixon TE, Pack AI, Cohen S. Responses of feline gastroesophageal junction to changes in abdominal pressure. *Am J Physiol* 253 (3 Pt 1): G315-22, 1987.
13. Brunings W. Über eine neue Behandlungsmethode der Rekurrenslähmung. *Verhandl ver Deutsch. Laryngol* 525 (18:93): 151, 1911.
14. Campos GM, Peters JH, DeMeester TR, Oberg S, Crookes PF, Mason RJ. The pattern of esophageal acid exposure in gastroesophageal reflux disease influences the severity of the disease. *Arch Surg* 134 (8): 882-7; discussion 887-8, 1999.
15. Carugno F, Donohue JH, Moreno E, Byrne J, Hodge DO, Ilstrup DM, Sarr MG. Development of an adjustable prosthesis for the treatment of gastroesophageal reflux: preliminary results in a porcine model. *Asaio J* 44 (3): 140-3, 1998.
16. Castell D. My approach to the difficult GERD patient. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11 Suppl 1: S17-23, 1999.
17. Dammann H. The relevance of acidity measurements in the management of gastro-oesophageal reflux disease. Vol. 2000: Wells Medical Holdings Ltda, 1998.
18. Dent J, Talley NJ. Overview: initial and long-term management of gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 17 Suppl 1: 53-7, 2003.
19. Devière J. 2002.
20. Deviere J, Pastorelli A, Louis H, de Maertelaer V, Lehman G, Cicala M, Le Moine O, Silverman D, Costamagna G. Endoscopic implantation of a biopolymer in the lower esophageal sphincter for gastroesophageal reflux: a pilot study. *Gastrointest Endosc* 55 (3): 335-41, 2002.

21. Donahue PE, Carvalho PJ, Davis PE, Shen YJ, Miidla I, Bombeck CT, Nyhus LM. Endoscopic sclerosis of the gastric cardia for prevention of experimental gastroesophageal reflux. *Gastrointest Endosc* 36 (3): 253-6, 1990.
22. Enck P, Dubois D, Marquis P. Quality of life in patients with upper gastrointestinal symptoms: results from the Domestic/International Gastroenterology Surveillance Study (DIGEST). *Scand J Gastroenterol Suppl* 231: 48-54, 1999.
23. Ersek RA, Chang P, Salisbury MA. Lipo layering of autologous fat: an improved technique with promising results. *Plast Reconstr Surg* 101 (3): 820-6, 1998.
24. Fagrell D, Enestrom S, Berggren A, Kniola B. Fat cylinder transplantation: an experimental comparative study of three different kinds of fat transplants. *Plast Reconstr Surg* 98 (1): 90-6; discussion 97-8, 1996.
25. Fein M, Fuchs KH, Stopper H, Diem S, Herderich M. Duodenogastric reflux and foregut carcinogenesis: analysis of duodenal juice in a rodent model of cancer. *Carcinogenesis* 21 (11): 2079-84, 2000.
26. Fennerty M. Endoscopic Therapies for GERD: Are we ready for prime time? (Comunicação Eletrônica) Site Medscape. Vol. 2003, 2002.
27. Fennerty MB. Endoscopic therapy for gastroesophageal reflux disease: what have we learned and what needs to be done? *Gastrointest Endosc Clin N Am* 13 (1): 201-9, 2003.
28. Feretis C, Benakis P, Dimopoulos C, Dailianas A, Filalithis P, Stamou KM, Manouras A, Apostolidis N. Endoscopic implantation of Plexiglas (PMMA) microspheres for the treatment of GERD. *Gastrointest Endosc* 53 (4): 423-6, 2001.
29. Filipi CJ, Lehman GA, Rothstein RI, Rajjman I, Stiegmann GV, Waring JP, Hunter JG, Gostout CJ, Edmundowicz SA, Dunne DP, Watson PA, Cornet DA. Transoral, flexible endoscopic suturing for treatment of GERD: a multicenter trial. *Gastrointest Endosc* 53 (4): 416-22, 2001.
30. Fletcher J, Wirz A, Young J, Vallance R, McColl KE. Unbuffered highly acidic gastric juice exists at the gastroesophageal junction after a meal. *Gastroenterology* 121 (4): 775-83, 2001.
31. Fockens P. Gatekeeper Reflux Repair System: technique, pre-clinical, and clinical experience. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 13 (1): 179-89, 2003.
32. Ford CN, Staskowski PA, Bless DM. Autologous collagen vocal fold injection: a preliminary clinical study. *Laryngoscope* 105 (9 Pt 1): 944-8, 1995.
33. Franzi SJ, Martin CJ, Cox MR, Dent J. Response of canine lower esophageal sphincter to gastric distension. *Am J Physiol* 259 (3 Pt 1): G380-5, 1990.
34. Fujimoto K, Iwakiri R, Okamoto K, Oda K, Tanaka A, Tsunada S, Sakata H, Kikkawa A, Shimoda R, Matsunaga K, Watanabe K, Wu B, Nakahara S, Ootani H, Ootani A. Characteristics of gastroesophageal reflux disease in Japan: increased prevalence in elderly women. *J Gastroenterol* 38 Suppl 15: 3-6, 2003.
35. Galmiche JP, Bruley des Varannes S. Endoluminal therapies for gastro-oesophageal reflux disease. *Lancet* 361 (9363): 1119-21, 2003.
36. Gitnick G. Gastroesophageal reflux disease: A clinician's guide. Vol. 2002. First ed: Medscape Inc., 2000.
37. Harriss DR, Iacovou JW, Lemberger RJ. Peri-urethral silicone microimplants (Macroplastique) for the treatment of genuine stress incontinence. *Br J Urol* 78 (5): 722-5; discussion 726-8, 1996.

38. Heij HA, Seldenrijk CA, Vos A. Anterior gastropexy prevents gastrostomy-induced gastroesophageal reflux: an experimental study in piglets. *J Pediatr Surg* 26 (5): 557-9, 1991.
39. Henry JP, Lenaerts A, Ligny G. [Diagnosis and treatment of gastroesophageal reflux in the adult: guidelines recommended by French and Belgian consensus]. *Rev Med Brux* 22 (1): 27-32, 2001.
40. Hirsch DP, Holloway RH, Tytgat GN, Boeckxstaens GE. Involvement of nitric oxide in human transient lower esophageal sphincter relaxations and esophageal primary peristalsis. *Gastroenterology* 115 (6): 1374-80, 1998.
41. Hochberger J, Tex S, Maiss J, Muehldorfer S, Hahn EG. Endoscopic antireflux treatment: fact, fiction or future? *Drugs Today (Barc)* 39 Suppl A: 21-8, 2003.
42. Hoffmann C, Schuller-Petrovic S, Soyer HP, Kerl H. Adverse reactions after cosmetic lip augmentation with permanent biologically inert implant materials. *J Am Acad Dermatol* 40 (1): 100-2, 1999.
43. Hogan WJ, Shaker R. A critical review of endoscopic therapy for gastroesophageal reflux disease. *Am J Med* 115 Suppl 3A: 201S-210S, 2003.
44. Hongo M, Shoji T. Epidemiology of reflux disease and CLE in East Asia. *J Gastroenterol* 38 Suppl 15: 25-30, 2003.
45. Houston H, Khaitan L, Holzman M, Richards WO. First year experience of patients undergoing the Stretta procedure. *Surg Endosc* 17 (3): 401-4, 2003.
46. Ismail T, Bancewicz J, Barlow J. Yield pressure, anatomy of the cardia and gastro-oesophageal reflux. *Br J Surg* 82 (7): 943-7, 1995.
47. Jacques S, Wagner E. Distribuição Normal ou de Gauss. In: UFRGS, ed. *Notas de aula de Bioestatística. Proto Alegre*, pp. 28-35, 1994.
48. Johnson DA. Endoscopic therapy for GERD--baking, sewing, or stuffing: an evidence-based perspective. *Rev Gastroenterol Disord* 3 (3): 142-9, 2003.
49. Johnson DA, Ganz R, Aisenberg J, Cohen LB, Deviere J, Foley TR, Haber GB, Peters JH, Lehman GA. Endoscopic implantation of enteryx for treatment of GERD: 12-month results of a prospective, multicenter trial. *Am J Gastroenterol* 98 (9): 1921-30, 2003.
50. Johnson DA, Ganz R, Aisenberg J, Cohen LB, Deviere J, Foley TR, Haber GB, Peters JH, Lehman GA. Endoscopic, deep mural implantation of Enteryx for the treatment of GERD: 6-month follow-up of a multicenter trial. *Am J Gastroenterol* 98 (2): 250-8, 2003.
51. Johnson LF, Demeester TR. Twenty-four-hour pH monitoring of the distal esophagus. A quantitative measure of gastroesophageal reflux. *Am J Gastroenterol* 62 (4): 325-32, 1974.
52. Kadirkamanathan SS, Evans DF, Gong F, Yazaki E, Scott M, Swain CP. Antireflux operations at flexible endoscopy using endoluminal stitching techniques: an experimental study. *Gastrointest Endosc* 44 (2): 133-43, 1996.
53. Kadirkamanathan SS, Yazaki E, Evans DF, Hepworth CC, Gong F, Swain CP. An ambulant porcine model of acid reflux used to evaluate endoscopic gastroplasty. *Gut* 44 (6): 782-8, 1999.
54. Kahrilas P, Hogan W. Gastroesophageal reflux disease. In: Sleisenger MH FJ, ed. *Gastrointestinal diseases. Vol. 1. fifth ed. Philadelphia: Saunders*, pp. 378-401, 1993.
55. Katz PO. Optimizing medical therapy for gastroesophageal reflux disease: state of the art. *Rev Gastroenterol Disord* 3 (2): 59-69, 2003.

56. Kaye M. Postprandial gastroesophageal reflux in healthy people. *Gut* 18: 709-712, 1977.
57. Kaye MD, Showalter JP. Measurement of pressure in the lower esophageal sphincter. The influence of catheter diameter. *Am J Dig Dis* 19 (9): 860-3, 1974.
58. Klinkenberg-Knol EC, Nelis F, Dent J, Snel P, Mitchell B, Prichard P, Lloyd D, Havu N, Frame MH, Roman J, Walan A, Group LT. Long-term omeprazole treatment in resistant gastroesophageal reflux disease: efficacy, safety, and influence on gastric mucosa. *Gastroenterology* 118 (4): 661-9, 2000.
59. Kobayashi S, Kasugai T. Endoscopic and biopsy criteria for the diagnosis of esophagitis with a fiberoptic esophagoscope. *Am J Dig Dis* 19 (4): 345-52, 1974.
60. Kononas TC, Bucky LP, Hurley C, May JW, Jr. The fate of suctioned and surgically removed fat after reimplantation for soft-tissue augmentation: a volumetric and histologic study in the rabbit. *Plast Reconstr Surg* 91 (5): 763-8, 1993.
61. Korn O, Stein HJ, Richter TH, Liebermann-Meffert D. Gastroesophageal sphincter: a model. *Dis Esophagus* 10 (2): 105-9, 1997.
62. Krauss MC. Recent advances in soft tissue augmentation. *Semin Cutan Med Surg* 18 (2): 119-28, 1999.
63. Lagergren J, Bergstrom R, Lindgren A, Nyren O. Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* 340 (11): 825-31, 1999.
64. Lanas A, Royo Y, Ortego J, Molina M, Sainz R. Experimental esophagitis induced by acid and pepsin in rabbits mimicking human reflux esophagitis. *Gastroenterology* 116 (1): 97-107, 1999.
65. Lehman GA. The history and future of implantation therapy for gastroesophageal reflux disease. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 13 (1): 157-65, xi, 2003.
66. Lehman GA. Injectable and bulk-forming agents for enhancing the lower esophageal sphincter. *Am J Med* 115 Suppl 3A: 188S-191S, 2003.
67. Lemperle G, Hazan-Gauthier N, Lemperle M. PMMA microspheres (Artecoll) for skin and soft-tissue augmentation. Part II: Clinical investigations. *Plast Reconstr Surg* 96 (3): 627-34, 1995.
68. Lemperle G, Ott H, Charrier U, Hecker J, Lemperle M. PMMA microspheres for intradermal implantation: Part I. Animal research. *Ann Plast Surg* 26 (1): 57-63, 1991.
69. Locke GR, 3rd, Talley NJ, Fett SL, Zinsmeister AR, Melton LJ, 3rd. Prevalence and clinical spectrum of gastroesophageal reflux: a population-based study in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology* 112 (5): 1448-56, 1997.
70. Louis H, Deviere J. Endoscopic implantation of enteryx for the treatment of gastroesophageal reflux disease: technique, pre-clinical and clinical experience. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 13 (1): 191-200, 2003.
71. Lydon SB, Dodds WJ, Hogan WJ, Arndorfer RC. The effect of manometric assembly diameter on intraluminal esophageal pressure recording. *Am J Dig Dis* 20 (10): 968-70, 1975.
72. Mahmood Z, McMahan B, O'Morain C, Weir DG. Innovations in gastro-intestinal endoscopy: endoscopic antireflux therapies for gastro-oesophageal reflux disease. *Dig Dis* 20 (2): 182-90, 2002.
73. Mahmood Z, McMahan BP, Arfin Q, Byrne PJ, Reynolds JV, Murphy EM, Weir DG. Endocinch therapy for gastro-oesophageal reflux disease: a one year prospective follow up. *Gut* 52 (1): 34-9, 2003.

74. Marsh RE, Awad ZT, Cornet DA, Tomonaga T, Smyrk T, Filipi CJ. Endoscopic SIS injection into the lower oesophageal sphincter in dogs. *Ir J Med Sci* 172 (1): 20-3, 2003.
75. Martinez SD, Malagon IB, Garewal HS, Cui H, Fass R. Non-erosive reflux disease (NERD)--acid reflux and symptom patterns. *Aliment Pharmacol Ther* 17 (4): 537-45, 2003.
76. Martinez-Serna T, Davis RE, Mason R, Perdakis G, Filipi CJ, Lehman G, Nigro J, Watson P. Endoscopic valvuloplasty for GERD. *Gastrointest Endosc* 52 (5): 663-70, 2000.
77. Mason RJ, Filipi CJ, DeMeester TR, Peters JH, Lund RJ, Flake AW, Hinder RA, Smyrk TC, Bremner CG, Thompson S. A new intraluminal antigastroesophageal reflux procedure in baboons. *Gastrointest Endosc* 45 (3): 283-90, 1997.
78. Mason RJ, Hughes M, Lehman GA, Chiao G, Deviere J, Silverman DE, DeMeester TR, Peters JH. Endoscopic augmentation of the cardia with a biocompatible injectable polymer (Enteryx) in a porcine model. *Surg Endosc* 16 (3): 386-91, 2002.
79. Massey BT. Potential control of gastroesophageal reflux by local modulation of transient lower esophageal sphincter relaxations. *Am J Med* 111 Suppl 8A: 186S-189S, 2001.
80. McClelland M, Egbert B, Hanko V, Berg RA, DeLustro F. Evaluation of artecoll polymethylmethacrylate implant for soft-tissue augmentation: biocompatibility and chemical characterization. *Plast Reconstr Surg* 100 (6): 1466-74, 1997.
81. McGouran RC, Galloway JM, Spence DS, Morton CP, Marchant D. Does measurement of yield pressure at the cardia during endoscopy provide information on the function of the lower oesophageal sphincter mechanism? *Gut* 29 (3): 275-8, 1988.
82. Melo L, Krueel C, Kliemann L, al. e. Influence of surgically induced gastric and gastroduodenal content reflux on esophageal carcinogenesis - experimental model of Wistar female rats. *Dis Esophagus* 12 (2): 106-15, 1999.
83. Menges M, Muller M, Zeitz M. Increased acid and bile reflux in Barrett's esophagus compared to reflux esophagitis, and effect of proton pump inhibitor therapy. *Am J Gastroenterol* 96 (2): 331-7, 2001.
84. Moraes-Filho J, Cecconello I, Gama-Rodrigues J, Castro L, Henry MA, Meneghelli UG, Quigley E. Brazilian consensus on gastroesophageal reflux disease: proposals for assessment, classification, and management. *Am J Gastroenterol* 97 (2): 241-8, 2002.
85. Moss SF, Armstrong D, Arnold R, Ferenci P, Fock KM, Holtmann G, McCarthy DM, Moraes-Filho JP, Mutschler E, Playford R, Spechler SJ, Stanghellini V, Modlin IM. GERD 2003 -- a consensus on the way ahead. *Digestion* 67 (3): 111-7, 2003.
86. Mowat C, Williams C, Gillen D, Hossack M, Gilmour D, Carswell A, Wirz A, Preston T, McColl KE. Omeprazole, *Helicobacter pylori* status, and alterations in the intragastric milieu facilitating bacterial N-nitrosation. *Gastroenterology* 119 (2): 339-47, 2000.
87. Muller-Lissner SA, Blum AL. Fundic pressure rise lowers lower esophageal sphincter pressure in man. *Hepatogastroenterology* 29 (4): 151-2, 1982.
88. Nader F, Costa JS, Nader GA, Motta GL. [Prevalence of heartburn in Pelotas, RS, Brasil: study in population base]. *Arq Gastroenterol* 40 (1): 31-4, 2004.
89. Navarro-Rodriguez T, Hashimoto CL, Carrilho FJ, Strauss E, Laudanna AA, Moraes-Filho JP. Reduction of abdominal pressure in patients with ascites reduces gastroesophageal reflux. *Dis Esophagus* 16 (2): 77-82, 2003.

90. Nebel OT, Fornes MF, Castell DO. Symptomatic gastroesophageal reflux: incidence and precipitating factors. *Am J Dig Dis* 21 (11): 953-6, 1976.
91. O'Connor KW, Lehman GA. Endoscopic placement of collagen at the lower esophageal sphincter to inhibit gastroesophageal reflux: a pilot study of 10 medically intractable patients. *Gastrointest Endosc* 34 (2): 106-12, 1988.
92. O'Connor KW, Madison SA, Smith DJ, Ransburg RC, Lehman GA. An experimental endoscopic technique for reversing gastroesophageal reflux in dogs by injecting inert material in the distal esophagus. *Gastrointest Endosc* 30 (5): 275-80, 1984.
93. OESO. Presentations in 7th World Polydisciplinary Congress. Paris, setembro 2003, 2003.
94. Pera M, Brito MJ, Poulson R, Riera E, Grande L, Hanby A, Wright NA. Duodenal-content reflux esophagitis induces the development of glandular metaplasia and adenocarcinoma in rats. *Carcinogenesis* 21 (8): 1587-91, 2000.
95. Pera M, Cardesa A, Bombi JA, Ernst H, Pera C, Mohr U. Influence of esophagojejunostomy on the induction of adenocarcinoma of the distal esophagus in Sprague-Dawley rats by subcutaneous injection of 2,6-dimethylnitrosomorpholine. *Cancer Res* 49 (23): 6803-8, 1989.
96. Pereira -Lima J, Blaya C, Rynkowski C, al. e. Prevalência da doença do refluxo gastroesofágico: estudo populacional em Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *GED* 19 (2): 73-78, 2000.
97. Peters JH, Silverman DE, Stein A. Lower esophageal sphincter injection of a biocompatible polymer: accuracy of implantation assessed by esophagectomy. *Surg Endosc* 17 (4): 547-50, 2003.
98. Petersen H. The prevalence of gastro-oesophageal reflux disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 211: 5-6, 1995.
99. Pfaffenbach B, Hullerum J, Orth KH, Langer M, Stabenow-Lohbauer U, Lux G. Bile and acid reflux in long and short segment Barrett's esophagus, and in reflux disease. *Z Gastroenterol* 38 (7): 565-70, 2000.
100. Radhakrishnan VV, Saraswathy A, Rao VR, Rout D, Jayakrishnan A. Histopathological evaluation of polymethyl methacrylate as an embolic agent. *Acta Neurochir (Wien)* 117 (1-2): 30-3, 1992.
101. Raghunath A, Hungin AP, Wooff D, Childs S. Prevalence of *Helicobacter pylori* in patients with gastro-oesophageal reflux disease: systematic review. *Bmj* 326 (7392): 737, 2003.
102. Rao VR, Ravimandalam K, Jayakrishnan A, Thanoo BC, Radhakrishnan VV, Gupta AK, Kumar S, Joseph S, Unni M, Rao AS. Hydrolysed microspheres from cross-linked polymethyl methacrylate (Hydrogel). A new embolic material for interventional neuroradiology. *J Neuroradiol* 18 (1): 61-9, 1991.
103. Rath M, Mansson I, Sandberg N. The prevalence of symptoms suggestive of esophageal disorders. *Scand J Gastroenterol* 26: 73, 1991.
104. Razeghi S, Lang T, Behrens R. Influence of percutaneous endoscopic gastrostomy on gastroesophageal reflux: a prospective study in 68 children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 35 (1): 27-30, 2002.
105. Remacle M, Marbaix E, Belgium Y. Further morphologic studies on collagen injected into canine vocal folds. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 100: 1007-13, 1991.
106. Richards WO, Houston HL, Torquati A, Khaitan L, Holzman MD, Sharp KW. Paradigm shift in the management of gastroesophageal reflux disease. *Ann Surg* 237 (5): 638-47; discussion 648-9, 2003.

107. Richter J. Do we know the cause of reflux disease? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11 (1): S3-9, 1999.
108. Rihkanen H. Vocal fold augmentation by injection of autologous fascia. *Laryngoscope* 108 (1 Pt 1): 51-4, 1998.
109. Rudolph CM, Soyer HP, Schuller-Petrovic S, Kerl H. Foreign body granulomas due to injectable aesthetic microimplants. *Am J Surg Pathol* 23 (1): 113-7, 1999.
110. Samuel M, Holmes K. Quantitative and qualitative analysis of gastroesophageal reflux after percutaneous endoscopic gastrostomy. *J Pediatr Surg* 37 (2): 256-61, 2002.
111. Schopf BW, Blair G, Dong S, Troger K. A porcine model of gastroesophageal reflux. *J Invest Surg* 10 (3): 105-14, 1997.
112. Shafik A. Intraesophageal Polytef injection for the treatment of reflux esophagitis. *Surg Endosc* 10 (3): 329-31, 1996.
113. Shaheen N, Provenzale D. The epidemiology of gastroesophageal reflux disease. *Am J Med Sci* 326 (5): 264-73, 2003.
114. Shaw GY, Szweczyk MA, Searle J, Woodroof J. Autologous fat injection into the vocal folds: technical considerations and long-term follow-up. *Laryngoscope* 107 (2): 177-86, 1997.
115. Sommer MN, Passy S. Preenchimento cutâneo e correção de deformidades da face com o uso de microesferas de PMMA - uma nova abordagem. *Material de divulgação do Meta<>Crill*
116. Su TH, Hsu CY, Chen JC. Injection therapy for stress incontinence in women. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 10 (3): 200-6, 1999.
117. Sullivan PB. Gastrostomy feeding in the disabled child: when is an antireflux procedure required? *Arch Dis Child* 81 (6): 463-4, 1999.
118. Swain CP, Brown GJ, Gong F, Mills TN. An endoscopically deliverable tissue-transfixing device for securing biosensors in the gastrointestinal tract. *Gastrointest Endosc* 40 (6): 730-4, 1994.
119. Swain CP, Kadirkamanathan SS, Gong F, Lai KC, Ratani RS, Brown GJ, Mills TN. Knot tying at flexible endoscopy. *Gastrointest Endosc* 40 (6): 722-9, 1994.
120. Swain CP, Mills TN. An endoscopic sewing machine. *Gastrointest Endosc* 32 (1): 36-8, 1986.
121. Tack J, Vantrappen G, Huyberegts G, Sifrim D, Janssens J, Van Overstraeten R. Validation of a new method of measuring esophageal acid exposure: comparison with 24-hour pH monitoring. *Dig Dis Sci* 48 (1): 16-21, 2003.
122. Theodoropoulos DS, Lockey RF, Boyce HW, Jr., Bukantz SC. Gastroesophageal reflux and asthma: a review of pathogenesis, diagnosis, and therapy. *Allergy* 54 (7): 651-61, 1999.
123. Toomey J, Brown B. The histological response to intracordal injection of Teflon paste. *Laryngoscope* 15: 110-119, 1966.
124. Tougas G, Chen Y, Hwang P, Liu MM, Eggleston A. Prevalence and impact of upper gastrointestinal symptoms in the Canadian population: findings from the DIGEST study. Domestic/International Gastroenterology Surveillance Study. *Am J Gastroenterol* 94 (10): 2845-54, 1999.
125. Triadafilopoulos G, Dibaise JK, Nostrant TT, Stollman NH, Anderson PK, Edmundowicz SA, Castell DO, Kim MS, Rabine JC, Utley DS. Radiofrequency energy delivery to the gastroesophageal junction for the treatment of GERD. *Gastrointest Endosc* 53 (4): 407-15, 2001.

126. Ullmann Y, Hyams M, Ramon Y, Beach D, Peled IJ, Lindenbaum ES. Enhancing the survival of aspirated human fat injected into nude mice. *Plast Reconstr Surg* 101 (7): 1940-4, 1998.
127. Underwood RA, Weinstock LB, Soper NJ, Quasebarth MA, Brunt LM. Laparoscopic removal of an Angelchik prosthesis. *Surg Endosc* 13 (6): 615-7, 1999.
128. Utley DS, Kim M, Vierra MA, Triadafilopoulos G. Augmentation of lower esophageal sphincter pressure and gastric yield pressure after radiofrequency energy delivery to the gastroesophageal junction: a porcine model. *Gastrointest Endosc* 52 (1): 81-6, 2000.
129. Vaezi MF, Richter JE. Role of acid and duodenogastroesophageal reflux in gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 111 (5): 1192-9, 1996.
130. Vakil N, Sharma P. Review article: endoscopic treatments for gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 17 (12): 1427-34, 2003.
131. Valle C, Broglia F, Pistorio A, Tinelli C, Perego M. Prevalence and impact of symptoms suggestive of gastroesophageal reflux disease. *Dig Dis Sci* 44 (9): 1848-52, 1999.
132. Vicente Y, Tovar J. Efectos del reflujo y la esofagitis sobre el aclaramiento de volumen y ácido en cerditos. Madrid, pp. 9-22, 2003.
133. Von Heland M, Mantovani F, Zanetti G, Ceresoli A, Ginepri A, Frascaro E, Pisani E, Di Silverio F. [Urethral implantation of collagen in the treatment of urinary incontinence. Comparison of transurethral and periurethral approach]. *Minerva Urol Nefrol* 50 (3): 213-21, 1998.
134. Wang W, Ji S, Wang H. 24-hour gastroesophageal double pH monitoring acid and alkaline gastroesophageal and duodenogastric refluxes in pediatric patients. *Chin Med J (Engl)* 111 (10): 881-4, 1998.
135. Watson DI, Mathew G, Pike GK, Jamieson GG. Comparison of anterior, posterior and total fundoplication using a viscera model. *Dis Esophagus* 10 (2): 110-4, 1997.
136. Wong WM, Lai KC, Lam KF, Hui WM, Hu WH, Lam CL, Xia HH, Huang JQ, Chan CK, Lam SK, Wong BC. Prevalence, clinical spectrum and health care utilization of gastro-oesophageal reflux disease in a Chinese population: a population-based study. *Aliment Pharmacol Ther* 18 (6): 595-604, 2003.