

**Faculdade de Ciências Médicas
Universidade Nova de Lisboa**

José Luís Costa Guedes da Silva
Licenciado em Medicina e Cirurgia

**Efeitos da Laqueação Proximal dos Vasos Curtos e da
Funduplicatura Total sobre a Microcirculação do Fundo
Gástrico; Estudo Microvascular em Cobaias**

**Tese de Doutoramento em Medicina
Especialidade de Cirurgia Geral**

Orientação científica

Professor Doutor Carlos Fernando Pereira Alves

Professor Doutor João Erse Goiry O'Neill

Lisboa, 2013

Declaração

Nome:

José Luís Costa Guedes da Silva

e-mail:

jguedesdasilva@netcabo.pt

Número de Bilhete de Identidade:

1927251

Título:

Efeitos da Laqueação Proximal dos Vasos Curtos e da Funduplicatura Total sobre a Microcirculação do Fundo Gástrico; Estudo Microvascular em Cobiaias

Orientação científica:

Professor Doutor Carlos Fernando Pereira Alves

Professor Doutor João Erse Goiry O'Neill

Doutoramento:

Doutoramento em Medicina – Especialidade de Cirurgia Geral

É autorizada a reprodução parcial desta tese, apenas para efeitos de investigação, mediante declaração escrita do interessado, que a tal se compromete.

Universidade Nova de Lisboa, 2013

José Luís Costa Guedes da Silva

Agradecimentos

A minha profunda gratidão aos meus dois orientadores, o Professor Doutor Carlos Fernando Pereira Alves e o Professor Doutor João Erse Goyri O'Neill, pelo generoso acolhimento ao meu Projeto na Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa. A ambos devo o repto para me lançar numa aventura desta natureza em que procurei a simbiose entre ciência Médica, ciência de animais de laboratório e ciências das técnicas de investigação vascular. De ambos recebi incentivo, ensino, confiança, cooperação, crítica e sugestões.

Aos colegas do Departamento de Anatomia, Professora Doutora Alexandra Pires, Dr.^a Assunção O'Neill, Dr. Pedro Barata, Dr. Luis Mascarenhas, Dr. Diogo Casal, Dr.^a Cristina Almeida, pela sua preciosa ajuda.

À Professora Doutora Ana Luísa Papoila, ao Dr. Daniel Virella e à Dr.^a Marta Alves do Gabinete de Análise Epidemiológica e Estatística do Centro de Investigação do CHLC, EPE pelo apoio e análise estatística.

Ao Professor Doutor António Fradique pela amizade, paciência, apoio e sugestões.

Ao Professor Doutor Alves Pereira, cirurgião dos Hospitais Cívicos de Lisboa, que foi Diretor do Serviço de Cirurgia 6 do Hospital dos Capuchos, com quem trabalhei durante 26 anos, mestre e amigo, pelo exemplo profissional e académico.

Ao Dr. Mário Oliveira, atual Diretor, e à Dr.^a Fernanda Cabrita, anterior Diretora, do Serviço de Anatomia Patológica do CHLC, EPE, pela colaboração e orientação nos estudos histológicos.

À Professora Doutora Maria de Fátima Guedes da Silva e ao Professor Doutor Leite Videira pela inestimável ajuda.

Ao Dr. Sacadura Fonseca e ao Dr. Jorge Penedo, pela camaradagem e participação no tratamento laparoscópico da doença do refluxo gastroesofágico no Serviço de Cirurgia 6 do Hospital dos Capuchos, CHLC, EPE.

A todos os colegas do Serviço de Cirurgia 6 do Hospital dos Capuchos, CHLC, EPE, de que sou responsável, pelo companheirismo e profissionalismo, destacando pela amizade de longos anos, o Dr. José Neves, a Dr.^a Ana Formiga, o Professor Doutor Trindade Soares, o Dr. Domingos Vaz, o Dr. Luis Moniz.

Ao Professor Doutor Esperança Pina, pelo estímulo.

Ao Sr. Carlos Lopes e ao Sr. Octávio Chaveiro pelo saber, disponibilidade e execução das técnicas das suas especialidades.

À Sr.^a D. Sandrine Esteves e à empresa *Covidien* que, me cederam, incondicionalmente, um aparelho de eletrocirurgia *Ligasure* e um conjunto de pinças *Precise* que me permitiram realizar com eficiência e fiabilidade a laqueação dos vasos curtos gástricos nas cobaias.

Efeitos da Laqueação Proximal dos Vasos Curtos e da Funduplicatura Total sobre a Microcirculação do Fundo Gástrico; Estudo Microvascular em Cobaias

Resumo

A operação de Nissen, por laparoscopia, é considerada a cirurgia antirefluxo mais adequada por ser a que melhor replica a fisiologia normal da válvula gastresofágica na maioria dos doentes com sintomas típicos de doença do refluxo gastresofágico (DRGE). São critérios técnicos o encerramento seguro dos pilares do diafragma e a criação de funduplicatura completa (360 graus), curta (inferior a dois centímetros), lassa e sem tensão – desiderando para o qual a laqueação proximal dos vasos curtos gástricos é crucial.

Realizei a operação de Nissen, por laparoscopia, em sessenta mulheres e quarenta homens com DRGE, sem mortalidade operatória, no Serviço de Cirurgia 6 do Hospital dos Capuchos, CHLC, EPE. Os cem doentes apresentavam média etária de 46 anos e queixas, com tempo de evolução entre 1 e 43 anos, de pirose (90%), regurgitação (80%), azia (73%), epigastralgias (54%). A endoscopia alta revelou esofagite de grau Savary-Miller 0-I (62%), II (23%), III (8%), IV (7%); hérnia de deslizamento (71%), hérnia paraesofágica (8%), sem hérnia (21%); a pHmetria de 24h diagnosticou padrão misto (38%), levantado (20%), deitado (20%), inconclusiva (22%) e a manometria diagnosticou EEI hipotónico (35%), peristálise esofágica normal (88%), hipomotilidade ligeira (5%) e foi omissa (7%). Hérnia hiatal, esofagite grave, ineficácia do controlo sintomático com inibidor da bomba de prótons e desejo de descontinuidade terapêutica constituíram as indicações para tratamento cirúrgico. Por celioscopia, efetuei laqueação dos vasos curtos gástricos (70%), cruroplastia e funduplicatura total (seda 2/0), curta (dimensão média 1,5-2 cm), lassa, sem tensão e sem calibração intraoperatória do esófago.

A funduplicatura de Nissen laparoscópica mostrou-se segura e eficaz no tratamento da DRGE. A sua idoneidade foi ainda comprovada pela normalização da pHmetria de 24 horas e da manometria pós-operatórias, com significado estatístico, num grupo de catorze voluntários assintomáticos. Em catamnese com recuo médio 30,7 meses 94% dos indivíduos persistem assintomáticos.

Interrogando-me acerca das repercussões desta operação sobre a microcirculação do fundo gástrico coloquei, como premissa, a possibilidade de na operação de Nissen a laqueação dos vasos curtos poder induzir modificação no diâmetro arteriolar da parede do fundo gástrico. Para pesquisar a influência da laqueação dos vasos curtos gástricos e da funduplicatura total sobre o calibre arteriolar da parede do estômago no cárdia, no fundo e na região dos vasos curtos gástricos, idealizei um Projeto de investigação experimental em cobaias.

O Projeto foi desenvolvido no Centro de Investigação do Departamento de Anatomia da FCM-UNL. Para a sua realização obtive autorização da Comissão Científica e Pedagógica da FCM-UNL, requeri a acreditação como investigador à Direção Geral de Veterinária e, por recorrer à utilização de animais, submeti-o à Comissão de Ética da FCM-UNL, que o aprovou por unanimidade.

Para limitar o número de animais utilizados ao mínimo necessário, calculei, por método estatístico, a quantidade de cobaias necessárias. Subdividindo-as num grupo de ensaio (GE), onde realizei a operação de Nissen, e num grupo de controlo (GC), onde apenas procedi a tração gástrica, defini e apliquei protocolos de anestesia, de cirurgia e de eutanásia, segundo os princípios dos 3R – *Replacement, Reduction, Refinement* da técnica de experimentação humana de Russell e Burch (1959) – uma estrutura ética amplamente aceite para a realização de experimentação científica humanizada com animais.

A utilização das técnicas de estudo angiomorfológico permitiu-me analisar e descrever a anatomia normal, a vascularização arterial macroscópica, a microangioarquitetura, por microscopia eletrónica de varrimento de moldes de corrosão vascular, e a histologia da parede do estômago da cobaia. Procedi, também, à definição dos critérios morfológicos que considerei suscetíveis de validação deste modelo animal para o estudo proposto.

Por razões académicas, foi necessário abreviar o Projeto encurtando, em cerca de dois anos, o prazo disponível para conclusão do estudo. Apreciando-o com o Gabinete de Análise Epidemiológica e Estatística do Centro de Investigação do CHLC, EPE, optou-se, perante a escassez de elementos após já terem sido recrutados 46 animais, por uma amostra, suplementar, de dimensão de conveniência de oito cobaias (quatro em cada grupo), condicionada pelo limite temporal universitário e pelo respeito pela dignidade dos animais. Neste subgrupo procedi, por microscopia eletrónica de varrimento, à medição dos calibres arteriolares nos moldes vasculares do cárdia, do fundo e da zona dos vasos curtos gástricos tanto no GC como no GE efetuando 469 medições no primeiro e 461 no último.

Os dados foram enviados ao Centro de Investigação do CHLC, EPE que procedeu à sua análise estatística (ANOVA). A referida análise revelou que as arteríolas do plexo mucoso e as do plexo submucoso do cárdia, do fundo e da região dos vasos curtos gástricos, mostraram aumento de calibre no GE. O aumento foi, estatisticamente, significativo por ser superior a 50% do calibre do GC. Nos vasos curtos, a diferença foi mais pequena, mas persistiu sendo, estatisticamente, significativa. Os vasos retos dilataram na base, na sua emergência do plexo seroso, apenas no fundo gástrico.

Na cobaia a operação de Nissen – funduplicatura total com laqueação dos vasos curtos gástricos –, provocou vasodilatação arteriolar do fundo gástrico. Considero que essa vasodilatação constituiu acomodação à modificação introduzida e infiro que o mesmo possa acontecer no ser humano. Admito, assim, que também ocorra vasodilatação no ser humano, na sequência da laqueação dos vasos curtos gástricos, pela analogia microvascular entre as duas espécies e que essa vasodilatação corresponda, igualmente, a um mecanismo de adaptação arteriolar visando, por exemplo, suprir a perda incorrida pela laqueação.

A associação experimental entre laqueação dos vasos curtos gástricos e realização de funduplicatura total, que exerce aumento inerente de pressão sobre a JEG, não só não provocou défice da microcirculação do esófago distal ou do estômago proximal como desencadeou um mecanismo de vasodilatação fúndica que reforça o conceito de segurança da operação de Nissen para tratamento da DRGE.

Effects of Proximal Ligation of Short Vessels and Total Fundoplication on Microcirculation of the Gastric Fundus; Microvascular Study in Guinea Pigs

Summary

The laparoscopic Nissen operation is considered to be the most appropriate antireflux surgery because it suitably replicates the standard physiology of the gastroesophageal valve in most patients with typical symptoms of gastroesophageal reflux disease (GERD). The technical criteria includes the safe shutdown of the diafragmatic crura (cruroplasty) and the creation of a complete fundoplication (360 degrees), short (lesser than two inches), floppy and without tension – a goal for which the proximal ligation of the gastric short vessels is crucial.

The laparoscopic Nissen operation was performed in sixty women and forty men with GERD, without any operative mortality, at the Surgical Department of the Hospital dos Capuchos, CHLC, EPE. The one hundred patients, averaged 46 years old, complained of heartburn (90%), regurgitation (80%) and upper abdominal pain (54 %). The endoscopy process revealed Savary-Miller esophagitis of grade 0-I (62%), II (23%), III (8%), IV (7%), sliding hernia (71%), paraesophageal hernia (8%) or no herniation (21%). The pHmetry/24h diagnosed mixed pattern (38%), raised (20%), lying (20%) or inconclusive (22%). The manometry diagnosed hypotensive LES (35%), normal esophageal peristalsis (88%), mild hypomotility (5%) and was absent (7%). Hiatal hernia, severe esophagitis, ineffective symptomatic control with proton pump inhibitor and request for treatment discontinuation were the signs for surgical action. A laparoscopic ligation of short gastric vessels (70%), cruroplasty and fundoplication (silk 2/0), short (average size 1.5–2 cm) and floppy, without tension and without intraoperative calibration of the esophagus were thus performed.

The laparoscopic Nissen fundoplication behaved safe and effective in treating GERD. In a group of 14 asymptomatic volunteers its reputation was confirmed with statistical significance by normalization of postoperative pHmetry/24h and manometry. 94% of the individuals remained asymptomatic up to 30.7 months (average) in the follow-up.

Interrogating myself about the impact of this operation on the microcirculation of the gastric fundus I put premised on the possibility of the ligation of the short gastric vessels in the Nissen procedure can induce changes in the arteriolar diameter in the wall of the gastric fundus.

To explore the influence of ligation of the short gastric vessels and the fundoplication at the arteriolar caliber of the cardia, the fundus and the region of the short vessels of the gastric wall, I designed a project of experimental research in guinea pigs with two interdependent components: one veterinary and another technical where I applied angiomorphological studies.

The project was developed at the Research Centre of the Department of Anatomy FCM-UNL. For its accomplishment I got permission from the Scientific and Pedagogical Committee of the FCM-UNL, I requested for accreditation as a researcher at the General Directorate of Veterinary and, by resorting to the use of animals I submitted it to the Ethics Committee of the FCM-UNL, which approved it unanimously.

The guinea pigs were divided into two experimental groups: an experimental group (EG), in which the Nissen procedure was performed and a control group (CG) in which only a gastric traction was done. Protocols of anesthesia, surgery and euthanasia were applied according to the 3Rs – Replacement, Reduction, Refinement of the technique of human experimentation of Burch and Russell (1959) – a widely accepted ethical framework for conducting scientific experiments using animals humanely.

Using histological and angiomorphological techniques, I performed the analysis and the description of the normal, macro and microvascular, anatomy of the guinea pig stomach and I defined the morphological criteria that I considered susceptible for validation of this animal model for the proposed study.

By means of scanning electron microscopy I measured the arteriolar calibers of the vascular casts of the cardia, of the fundus and of the short gastric vessels in both CG and EG, making 469 measurements in the former and 461 in the latter. The data were sent to the Research Center of the CHLC which conducted the statistical analysis (ANOVA).

The data were sent to the Centre for Research of the CHLC, EPE which proceeded to statistical analysis (ANOVA). This analysis revealed that the arterioles plexus of the mucosal and submucosal plexus of the cardia, fundus and region of the short gastric vessels, showed increased caliber in EG. The increase was statistically significant for being greater than 50% CG gauge. In the short gastric vessels, the difference was smaller, but persisted and statistically significant. Straight vessels were dilated at the base, on its emergence of the plexus serous only in the fundus.

In the guinea pig, the Nissen procedure - complete fundoplication with ligation of the short gastric vessels - caused arteriolar vasodilation on the gastric fundus. I believe that this vasodilation constituted some accommodation to the modification introduced and infer that the same might happen in humans. I admit therefore that vasodilation also occurs in humans following the ligation of the short gastric vessels by microvascular analogy between the two species and that this vasodilation corresponds also to an adaptation mechanism arteriolar, for example, to compensate the loss incurred by ligation.

The association of experimental ligation of the short gastric vessels with conducting complete fundoplication, which exerts increased pressure on the EGJ, not only did not cause a microcirculation deficit of the distal esophagus or proximal stomach as triggered a mechanism of fundic vasodilation which reinforces the security concept of the Nissen procedure for treatment of GERD.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	3
ÍNDICE DE TABELAS	10
ÍNDICE DE FIGURAS	12
INTRODUÇÃO	16
PARTE I: TRATAMENTO CIRÚRGICO DA DOENÇA DO REFLUXO GASTRESOFÁGICO	20
CAPÍTULO 1 – A DOENÇA DO REFLUXO GASTRESOFÁGICO	21
Epidemiologia.....	21
Fisiopatologia.....	22
Semiologia clínica.....	34
Exames auxiliares de diagnóstico.....	39
Tratamento médico.....	46
Tratamento antirefluxo endoscópico.....	50
CAPÍTULO 2 – A CIRURGIA ANTIREFLUXO	51
Indicações cirúrgicas	52
Técnicas cirúrgicas antirefluxo	54
Esôfago de Barrett e cirurgia antirefluxo	62
Displasia no esôfago de Barrett.....	64
Hérnia do hiato e cirurgia antirefluxo	70
CAPÍTULO 3 – A OPERAÇÃO DE NISSEN. EXPERIÊNCIA COM CEM CASOS CONSECUTIVOS	74
A. Doentes e métodos.....	74
B. Técnica operatória	78
C. Resultados.....	80
D. Cotejo dos resultados obtidos com a cirurgia antirefluxo laparoscópica com os de séries da literatura	84
CAPÍTULO 4 – FUNDOPLICATURA TOTAL E PERFUSÃO DO FUNDO GÁSTRICO	88
Perfusão do fundo gástrico.....	88
Justificação da pertinência da tese	90
Hipótese experimental.....	90
PARTE II – PROJETO DE EXPERIMENTAÇÃO. MATERIAL E MÉTODOS	91
CAPÍTULO 5 – ESCOLHA DA ESPÉCIE ANIMAL	92
A. Razões da escolha da espécie.....	92
B. Anatomia do estômago da cobaia	92
C. Histologia do estômago da cobaia	93
CAPÍTULO 6 – ELEMENTOS DE EPIDEMIOLOGIA E ESTATÍSTICA	94
O impacto da estatística no desenho experimental	94
CAPÍTULO 7 – BEM-ESTAR ANIMAL	98
A. Biologia e manejo das cobaias.....	98
CAPÍTULO 8 – TÉCNICAS DE ANESTESIA EM ROEDORES	102
A. Reconhecimento da dor (nocicepção) nos animais	102
B. Planeamento anestésico.....	103
C. Exemplos de protocolos anestésicos – Anestesia de coelhos	107
CAPÍTULO 9 – PROTOCOLOS DO PROJETO	109

A. Protocolo de anestesia e analgesia	109
B. Protocolo operatório	112
C. Protocolo de eutanásia	114
D. Protocolo de injeção vascular.....	115
CAPÍTULO 10 – TÉCNICAS DE ESTUDO ANGIOMORFOLÓGICO	117
A. Técnicas macrovasculares	117
B. Técnicas microvasculares.....	122
C. Técnica microvascular e histologia.....	128
CAPÍTULO 11 – CONSEQUÊNCIAS PRÁTICAS.....	130
A. Da clínica veterinária.....	130
B. Das técnicas de estudo angiomorfológico	133
Vascularização arterial do estômago da cobaia. Descrição macroscópica	134
Microangioarquitetura do estômago da cobaia por microscopia eletrônica de varrimento de moldes de corrosão vascular.....	141
Estudo histológico da parede gástrica da cobaia - <i>Cavia Porcellus</i>	154
CAPÍTULO 12 – SEMELHANÇAS MORFOLÓGICAS ENTRE O MODELO ANIMAL E O HOMEM	170
Anatomia vascular do estômago da cobaia.....	170
Anatomia vascular do estômago do ser humano	170
Histologia do estômago da cobaia.....	174
Histologia do estômago no ser humano	174
Microcirculação.....	175
PARTE III – RESULTADOS EXPERIMENTAIS.....	177
CAPÍTULO 13 – RESULTADOS ESTATÍSTICOS (SÉRIE DE CONVENIÊNCIA)	178
Análise gráfica dos dados.....	179
PARTE IV – DISCUSSÃO.....	188
CAPÍTULO 14 – DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	189
Resultados da cirurgia antirefluxo.....	189
Resultados experimentais	190
Translação possível dos resultados experimentais para o ser humano	191
Vínculo final entre clínica e experimentação animal.....	200
Perspetiva futura do tratamento da DRGE	201
PARTE V - CONCLUSÕES.....	202
CAPÍTULO 15 – CONCLUSÕES	203
DRGE e cirurgia antirefluxo	203
Projeto de experimentação.....	204
Extrapolação dos resultados experimentais	204
Contribuições singulares.....	205
PARTE VI – REFERÊNCIAS	206
CAPÍTULO 15 – BIBLIOGRAFIA	207

ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo 1 – A Doença do Refluxo Gastresofágico

<i>Tabela 1 – Semiologia clínica na DRGE</i>	34
<i>Tabela 2 – Classificação da DRGE. Escala de pontuação dos sintomas</i>	35
<i>Tabela 3 – Valor da semiologia no diagnóstico da DRGE</i>	39
<i>Tabela 4 – Classificação de Savary-Miller modificada (1989)</i>	40
<i>Tabela 5 – Classificação de Los Angeles (1994)</i>	41
<i>Tabela 6 – Algoritmo diagnóstico da DRGE (Modificado de Herwaarden e Smout)</i>	45
<i>Tabela 7 – Alterações do estilo de vida</i>	46
<i>Tabela 8 – Tratamento farmacológico da DRGE</i>	47
<i>Tabela 9 – Causas frequentes de falência do tratamento na DRGE</i>	49

Capítulo 2 – A Cirurgia Antirefluxo

<i>Tabela 10 – História da evolução da cirurgia antirefluxo</i>	51
<i>Tabela 11 – Indicações para cirurgia antirefluxo</i>	53
<i>Tabela 12 – Variantes de funduplicatura parcial</i>	56
<i>Tabela 13 – Etapas da funduplicatura de Nissen por laparoscopia</i>	57
<i>Tabela 14 – Contraindicações relativas para cirurgia antirefluxo laparoscópica</i>	57
<i>Tabela 15 – História da hérnia do hiato</i>	70
<i>Tabela 16 – Classificação das hérnias do hiato</i>	70
<i>Tabela 17 – Abordagem transtorácica</i>	72
<i>Tabela 18 – Abordagem laparoscópica</i>	72
<i>Tabela 19 – Incidência dos sintomas e dos sinais nos 100 doentes</i>	75

Capítulo 3 – A Operação de Nissen. Experiência com Cem Casos Consecutivos

<i>Tabela 20 – Indicação operatória nos 100 doentes</i>	75
<i>Tabela 21 – Graduação da esofagite, Savary-Miller, nos 100 doentes</i>	76
<i>Tabela 22 – Manometria; associação entre a anomalia anatômica da JEG e disfunção EEI</i>	78
<i>Tabela 23 – Técnica cirúrgica laparoscópica adotada</i>	79
<i>Tabela 24 – Morbidade até aos trinta dias</i>	80
<i>Tabela 25 – Morbidade além dos trinta dias</i>	81
<i>Tabela 26 – Seguimento clínico em consulta externa</i>	81
<i>Tabela 27 – pHmetria de 24 horas, de reavaliação pós-operatória, em 14 voluntários</i>	82
<i>Tabela 28 – Manometria pós-operatória em 14 voluntários</i>	83
<i>Tabela 29 – Manometria pós-operatória em seis casos de recorrência</i>	84
<i>Tabela 30 – pHmetria de 24 horas pós-operatória em seis casos de recorrência</i>	84

Capítulo 7 – Bem-Estar Animal

<i>Tabela 31 – Características da cobaia</i>	99
<i>Tabela 32 – Alimentação e manejo da cobaia</i>	100

Capítulo 9 – Protocolos do Projeto

<i>Tabela 33 – Fármacos para anestesia geral de cobaias</i>	110
---	-----

Capítulo 10 – Técnicas de Estudo Angiomorfológico

Tabela 34 – Técnica de diafanização modificada. Departamento de Anatomia (2012)" 120

Capítulo 11 – Consequências Práticas

Tabela 35 – Cobaías utilizadas por ano de experimentação 130

Tabela 36 – Cobaías utilizadas no Projeto 131

Tabela 37 – Constituição das equipas cirúrgicas..... 131

Tabela 38 – Mortalidade operatória 132

Tabela 39 – Resultados da injeção vascular (sem a série final) 132

Tabela 40 – Calibre das artérias serosas do estômago da cobaia por região gástrica. 141

Tabela 41 – Espessura parietal do estômago da cobaia por região gástrica..... 142

Tabela 42 – Calibres arteriulares intraparietais por região do estômago da cobaia..... 147

Tabela 43 – Comprimentos arteriulares intraparietais por região do estômago da cobaia 147

Capítulo 13 – Resultados Estatísticos (série de conveniência)

Tabela 44 – Análise de variância ANOVA a dois fatores do calibre arteriolar pelo segmento vascular, região do estômago e grupo de intervenção. 184

Tabela 45 – Análise de variância ANOVA do calibre arteriolar no fundo gástrico pelo segmento vascular e grupo de intervenção..... 187

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 3 – A Operação de Nissen. Experiência com Cem Casos Consecutivos

<i>Figura 1 – Casuística operatória anual, 100 casos.....</i>	<i>74</i>
<i>Figura 2 – Diagnóstico endoscópico nos 100 casos.....</i>	<i>76</i>
<i>Figura 3 – Índices de DeMeester individuais pré-operatórios (pHmetria) nos 100 casos.....</i>	<i>77</i>
<i>Figura 4 – Pressões EEI individuais pré-operatórias (manometria) nos 100 casos.....</i>	<i>79</i>
<i>Figura 5 – Índices de DeMeester antes e após fundoplicatura total em 14 voluntários</i>	<i>82</i>
<i>Figura 6 – Pressões EEI individuais antes e após fundoplicatura total em 14 voluntários</i>	<i>83</i>

Capítulo 11 – Consequências Práticas

<i>Figura 7 – Região fúndica, divisão dicotômica dos ramos da artéria gástrica esquerda</i>	<i>135</i>
<i>Figura 8 – Tronco antropilórico, gerações de divisão dicotômica dos ramos da artéria gástrica esquerda sobre a parede anterior.....</i>	<i>135</i>
<i>Figura 9 – Região pilórica, divisão dicotômica dos ramos da artéria gástrica esquerda</i>	<i>136</i>
<i>Figura 10 – Grande curvatura, anastomoses arteriais.....</i>	<i>136</i>
<i>Figura 11 – Vascularização da parede gástrica posterior; diafanização</i>	<i>138</i>
<i>Figura 12 – Plexo seroso, anastomoses (A) entre a artéria gástrica esquerda e ramos de calibre idêntico, mas de 2ª ou 3ª ordem, da artéria gastrepiplóica; diafanização.....</i>	<i>138</i>
<i>Figura 13 – Anastomoses arteriais serosas (A); ampliação com lupa estereoscópica</i>	<i>139</i>
<i>Figura 14 – Antro, vaso reto entre a artéria serosa e a mucosa.....</i>	<i>139</i>
<i>Figura 15 – Pequena curvatura, vasos serosos (1ª ordem, 44 a 150 µm)</i>	<i>143</i>
<i>Figura 16 – Grande curvatura, vasos serosos (1ª ordem, 70,9 a 171 µm).....</i>	<i>143</i>
<i>Figura 17 – Antro, espessura parietal (415 µm).....</i>	<i>144</i>
<i>Figura 18 – Antro, camadas da parede; referências vasculares.....</i>	<i>144</i>
<i>Figura 19 – Grande curvatura, vaso reto (2ª ordem; 44,5 µm) e plexo submucoso</i>	<i>145</i>
<i>Figura 20 – Grande curvatura, vaso reto; contributo para a malha subepitelial mucosa.....</i>	<i>145</i>
<i>Figura 21 – Grande curvatura, impressões musculares circunferenciais na adventícia da base de um vaso reto.....</i>	<i>146</i>
<i>Figura 22 – Corpo, espessura da parede gástrica; vaso reto.....</i>	<i>146</i>
<i>Figura 23 – Pequena curvatura, malha arteriolar mucosa</i>	<i>149</i>
<i>Figura 24 – Antro, glândulas gástricas; vaso reto.....</i>	<i>149</i>
<i>Figura 25 – Antro, glândula gástrica, maceração parcial</i>	<i>150</i>
<i>Figura 26 – Antro, orifício de cripta</i>	<i>150</i>
<i>Figura 27 – Antro, plexo mucoso; criptas.....</i>	<i>151</i>
<i>Figura 28 – Antro, plexo mucoso e criptas; maceração parcial.....</i>	<i>151</i>
<i>Figura 29 – Cárdia, vascularização das glândulas gástricas.....</i>	<i>152</i>
<i>Figura 30 – Fundo, vasos da mucosa. Componente glandular, (HE, 400x).....</i>	<i>152</i>
<i>Figura 31 – Fundo, prega de muscularis mucosae. As pregas são sempre da muscularis mucosae, (HE, 40x).....</i>	<i>155</i>
<i>Figura 32 – Cárdia, transição entre o epitélio pavimentoso e epitélio glandular, (HE, 20x) ..</i>	<i>155</i>
<i>Figura 33 – Esófago, a mucosa praticamente sem glândulas. Córion e muscularis mucosae, (HE, 100x).....</i>	<i>156</i>
<i>Figura 34 – Esófago, toda a parede: mucosa, muscularis mucosae, submucosa e muscular, (HE, 40x).....</i>	<i>156</i>

<i>Figura 35 – Pequena curvatura, zona de transição muscular; a mucosa sempre glandular, (HE, 40x).....</i>	<i>157</i>
<i>Figura 36 – Pequena curvatura. Presença de prega que evidencia bem a muscularis mucosae, (HE, 40x).....</i>	<i>157</i>
<i>Figura 37 – Pequena curvatura, vasos a serpentear entre as glândulas, (HE, 100x).....</i>	<i>158</i>
<i>Figura 38 – Pequena curvatura, secção de várias glândulas gástricas, (HE, 400x).....</i>	<i>158</i>
<i>Figura 39 – grande curvatura, praticamente não existe submucosa; no entanto observa-se um grande vaso em área submucosa. Muscularis mucosae bem visível, (HE, 100x).....</i>	<i>159</i>
<i>Figura 40 – Grande curvatura, vasos à volta das glândulas desde baixo (esquerda) até cima (direita), (HE, 100x).....</i>	<i>159</i>
<i>Figura 41 – Grande curvatura, muscularis mucosae e glândulas, (HE, 400x).....</i>	<i>160</i>
<i>Figura 42 – Corpo, região glandular e vascularização, (HE, 100x).....</i>	<i>160</i>
<i>Figura 43 – Corpo, zona com muscularis mucosae com arteríola e vénula. A vénula tem parede pouco espessa porque a pressão é baixa, (HE, 100x).....</i>	<i>163</i>
<i>Figura 44 – Antro, zona de transição muito equivalente ao corpo, o aspeto das glândulas é semelhante. A mucosa do antro é menos espessa. Ainda se veem células eosinófilas, típicas do corpo. Começam a aparecer as glândulas mucosas, (HE, 100x).....</i>	<i>163</i>
<i>Figura 45 – Píloro, região glandular, (HE, 100x).....</i>	<i>164</i>
<i>Figura 46 – Transição gastroduodenal, zona onde começam a aparecer as glândulas de Brunner, (HE, 100x).....</i>	<i>164</i>
<i>Figura 47 – Píloro, glândulas de Brunner, (HE, 40x).....</i>	<i>165</i>
<i>Figura 48 – Duodeno, glândulas de Brunner na submucosa; é dos poucos sítios em que há glândulas na submucosa, (HE, 100x).....</i>	<i>165</i>
<i>Figura 49 – Glândula duodenal, o epitélio é diferente porque já se veem células caliciformes, (HE, 400x).....</i>	<i>166</i>
<i>Figura 50 – Corte que confirma que há sempre glândulas em toda a mucosa. Zona de transição de espessura da muscular própria, (HE, 40x).....</i>	<i>166</i>
<i>Figura 51 – Fundo, vasos de grande calibre na submucosa, (HE, 100x).....</i>	<i>167</i>
<i>Figura 52 – Grande curvatura, quase não existe submucosa; vê-se muito bem a muscularis mucosae, (HE, 100x).....</i>	<i>167</i>
<i>Figura 53 – Antro transição, o aspeto das glândulas é semelhante. A mucosa do antro é menos espessa. Ainda se veem células eosinófilas, típicas do corpo. Começam a aparecer as glândulas mucosas, (HE, 100x).....</i>	<i>168</i>
<i>Figura 54 – Transição esofagogástrica, (HE, 100x).....</i>	<i>168</i>
<i>Figura 55 – Grande curvatura, as duas camadas da muscular própria: a interna, em corte longitudinal e a externa, em corte transversal. Nesta zona, a submucosa é muito maior, (HE, 100x).....</i>	<i>169</i>
<i>Figura 56 – Píloro, espessamento da camada muscular, (HE, 40x).....</i>	<i>169</i>

Capítulo 13 – Resultados Estatísticos (série de conveniência)

<i>Figura 57 – Calibre arteriolar do plexo mucoso (mícron) no cárdia, no fundo e na região dos vasos curtos (GC n=32; GE n=32). Verificou-se maior calibre no grupo de intervenção (GE) do que no grupo de controlo (GC).....</i>	<i>179</i>
<i>Figura 58 – Calibre arteriolar do plexo submucoso (mícron) no cárdia, no fundo e na região dos vasos curtos (GC n=32; GE n=32). Verificou-se maior calibre no grupo de intervenção (GE) do que no grupo de controlo (GC).</i>	<i>180</i>

<i>Figura 59 – Calibre arteriolar dos ramos dos vasos retos (micron) no cárdia (GC n=32; GE n=32), no fundo (GC n=31; GE n=32) e na região dos vasos curtos (GC n=32; GE n=32). Não se verificaram diferenças de calibre no grupo de intervenção (GE) em relação ao grupo de controlo (GC).</i>	181
<i>Figura 60 – Calibre arteriolar do topo dos vasos retos (micron) no cárdia (GC n=31; GE n=30), no fundo (GC n=30; GE n=28) e na região dos vasos curtos (GC n=32; GE n=32). Não se verificaram diferenças de calibre no grupo de intervenção (GE) relativamente ao grupo de controlo (GC).</i>	182
<i>Figura 61 – Calibre arteriolar da base dos vasos retos (micron) no cárdia (GC n=27; GE n=27), no fundo (GC n=30; GE n=27) e na região dos vasos curtos (GC n=32; GE n=29). Verificou-se maior calibre no grupo de intervenção (GE) do que no grupo de controlo (GC) no fundo gástrico; não se verificaram diferenças de calibre no cárdia e na região dos vasos curtos.</i>	183
<i>Figura 62 – Calibre arteriolar (micron) na região dos vasos curtos (A), no fundo gástrico (B) e no cárdia (C), nos diferentes segmentos, da base dos vasos retos dos plexos mucoso e submucoso. Verificou-se diminuição do calibre dos vasos retos nos plexos mucoso e submucoso.</i>	186
<i>Figura 63 – Calibre arteriolar médio (micron) no plexo mucoso na região dos vasos curtos, no fundo gástrico e no cárdia. Verificou-se maior calibre das arteríolas do plexo mucoso no grupo de intervenção (GE).</i>	186

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

No tratamento da doença do refluxo gastresofágico (DRGE), a cirurgia antirefluxo visa restabelecer a competência do esfíncter esofágico inferior (EEI) preservando a capacidade de deglutição do doente. Ao proporcionar cura anatômica e fisiológica, a cirurgia impede as consequências adversas da continuada exposição do esófago ao refluxo ácido e biliar.

A fundoplicatura de Nissen, por laparoscopia, é considerada a operação antirefluxo mais adequada, por ser a que melhor replica a fisiologia normal da válvula gastresofágica na maioria dos doentes com sintomas típicos. Os critérios técnicos da fundoplicatura total são o encerramento seguro dos pilares do diafragma e a criação de fundoplicatura curta (menor que dois centímetros), completa (360 graus), lassa e sem tensão. Neste desiderando, a laqueação proximal dos vasos curtos gástricos é crucial.

As técnicas de fundoplicatura oscilam entre a resistência ao fluxo e a durabilidade da reparação. Em geral, as fundoplicaturas totais criam maior resistência, quer prógrada (maior potencial de incidência de disfagia), quer retrógrada (menor risco de refluxo pós-operatório) e, a longo prazo, são mais duráveis do que as fundoplicaturas parciais. Em contraste, as fundoplicaturas parciais têm menor resistência ao fluxo, prógrado ou retrógrado e, embora associadas com menor incidência de disfagia, têm maior risco de recorrência de refluxo e de desagregação da plicatura.

Iniciei o tratamento cirúrgico por laparoscopia da doença do refluxo gastresofágico em 1995, após ter visitado o Dr. Joseph Amaral, professor de cirurgia do Hospital de Providence, nos EUA, em cujo serviço estagiei e onde presenciei o tratamento desta patologia por laparoscopia, tendo tido, nessa ocasião, a oportunidade de executar a técnica da fundoplicatura total em porco, no biotério do hospital.

Desde então, tratei algumas dezenas destes enfermos no Serviço de Cirurgia 6 do Hospital dos Capuchos, CHLC, EPE. No segundo capítulo refiro os resultados obtidos em 100 doentes com DRGE, que tratei por laparoscopia, realizando cruroplastia, fundoplicatura total e laqueação proximal dos vasos curtos gástricos.

Sendo escassos os elementos relacionados com as consequências da laqueação dos vasos curtos e da fundoplicatura total sobre a microcirculação do fundo gástrico, apresentei à direção do Departamento de Anatomia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa (FCM-UNL) um Projeto de experimentação em cobaias, estruturado segundo os princípios dos 3R – *Replacement, Reduction, Refinement* – da técnica de experimentação humana de Russell e Burch (1959), para avaliação da angiormorfologia microvascular do estômago proximal, oito dias após realização prévia daqueles dois gestos da operação de Nissen.

Iniciei a frequência do Centro de Investigação do Departamento de Anatomia da FCM-UNL, agregando-me à equipa de investigadores constituída pelo Professor Doutor João O'Neill e pela Dr.^a Assunção O'Neill. Decorria, então, um projeto de experimentação animal, na área de Otorrinolaringologia, que, tal como o meu, consistia de um estudo angiormorfológico em cobaias. Pela similitude dos métodos a aplicar, acordou-se, enquanto fosse possível, na utilização comum de animais para redução do número de cobaias a empregar.

Num ambiente tão favorável, tomei contato com as etapas de uma experimentação que detinha aspetos comuns áqueles que me eram necessários e que, mais tarde, eu viria a empregar. Deste modo, iniciei uma curva de aprendizagem apoiada em diversas áreas da ciência de animais de laboratório, apercebendo-me dos múltiplos aspetos relacionados com o bem-estar animal, condições de alojamento, anatomia da cobaia, anestesia geral de roedores, cirurgia experimental, pós-operatório dos animais, eutanásia, eutanásia humana, técnicas de cateterização e de injeção vascular, contrastes vasculares, acompanhamento do trabalho laboratorial e complementaridade entre técnicas.

Frequentei o curso de microscopia eletrónica organizado pelos Professores João O'Neill e Alloys Lametschwandner, da Universidade de Salzburgo e, no âmbito da formação em ciência de animais de laboratório, o IX Curso de Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, organizado pelo Professor Doutor Luís Tavares, onde adquiri o grau de investigador, categoria C, da *Federation of European Laboratory Animal Science Associations* (FELASA).

A utilização de animais para fins experimentais ou científicos deve reger-se pelas normas da portaria nº 1005/92, que transpõe para o direito interno a Diretiva nº 86/609/CEE do Conselho da Europa, relativa à proteção dos animais utilizados para fins científicos. Tendo obtido autorização da Comissão Científica e Pedagógica da FCM-UNL para a realização do Projeto, requeri a acreditação como investigador à Direção Geral de Veterinária e, por recorrer à utilização de animais, submeti o Projeto à Comissão de Ética da FCM-UNL, que o aprovou por unanimidade.

Os animais do Projeto, cujo número total estimei, inicialmente, em sessenta e oito, foram subdivididos num grupo de ensaio (GE), onde realizei a operação de Nissen, e num grupo de controlo (GC), onde apenas procedi a laparotomia. No decurso da avaliação periódica dos resultados, procurei elementos orientadores no sentido da redução do número dos animais a utilizar. O número total de cobaias usadas no Projeto foi de cinquenta e quatro.

O Projeto teve duas componentes interdependentes relativamente às consequências práticas: uma, de clínica veterinária e outra, de utilização de técnicas de estudo angiomorfológico, em cuja concretização elaborei e utilizei protocolos de atuação. Na clínica veterinária, defini e apliquei um protocolo de anestesia, um de cirurgia e outro de eutanásia. A utilização das técnicas de estudo angiomorfológico permitiu-me descrever a vascularização arterial macroscópica, a microangioarquitetura por microscopia eletrónica de varrimento de moldes de corrosão vascular e a histologia da parede do estômago da cobaia.

Desenvolvi a atividade de clínica veterinária por etapas. Na primeira etapa, os animais foram operados sob anestesia geral; na segunda etapa, a partir do sétimo dia de pós-operatório, correspondente ao termo do período clínico, todas as cobaias foram eutanasiadas, sob anestesia geral, por exsanguinação; e na terceira etapa, logo após a eutanásia, foram efetuadas técnicas de injeção vascular para caracterização angiomorfológica e medição dos calibres microvasculares das camadas da parede gástrica.

Quando iniciei o protocolo cirúrgico, a laqueação dos vasos curtos gástricos e a funduplicatura total foram muito mal toleradas pelos primeiros nove animais do GE, registrando elevada morbidade e mortalidade. Cinco cobaias faleceram no pós-operatório imediato (56%). Outras três, manifestando recusa alimentar, desidratação e perda ponderal progressivas, sofreram eutanásia humana até ao quinto dia (33%). A autópsia dos animais falecidos, nas circunstâncias descritas, permitiu excluir causas de morte relacionáveis com a cirurgia. Deste lote, apenas um animal sobreviveu, equilibrado (11%). Melhoria significativa da sobrevivência das cobaias passou a ocorrer quando, aperfeiçoando o protocolo de anestesia, introduzi a pré-anestesia, administrada trinta minutos antes da anestesia geral, constituída por um sedativo, um anticolinérgico e um analgésico. Com este ajustamento do protocolo anestésico, operei outras 7 cobaias, 2 machos e 5 fêmeas, com média ponderal de 621 gramas, todos pertencentes ao GE. Deste lote, seis cobaias sobreviveram e apenas uma morreu às doze horas, de causa cirúrgica, com peritonite por necrose cáustica do estômago, resultante da aplicação sobre a serosa de *betadine*, solução cutânea a 10%.

Uma auditoria externa realizada em 2011 considerou que o Projeto tinha o mérito de ser inovador, na medida em que procurava um modelo alternativo ao humano para refinar as técnicas em utilização.

Em maio de 2012, o calendário académico foi alterado na sequência da publicação do Regulamento nº 134/2012, de 30 de março (Regulamento de transição para os novos ciclos de Doutoramento (modelo de Bolonha) dos alunos inscritos em Doutoramento. A atribuição de 220 créditos a todos os candidatos que solicitassem admissão a discussão pública até 31 de julho de 2012, desde que viessem a obter o respetivo parecer favorável, levou-me a aderir a estas novas condições, encurtando em cerca de dois anos o prazo disponível para conclusão do Projeto.

Apreciando o Projeto com Gabinete de Análise Epidemiológica e Estatística do Centro de Investigação do CHLC, EPE, perante o limite temporal referido e dada a vontade de reduzir o número de animais utilizados, decidiu-se um plano de recolha, análise e interpretação dos dados, optando por uma amostra de dimensão de conveniência, de oito cobaias sendo quatro do GE e quatro do GC. Pela elevada variabilidade do calibre arteriolar, foi decidido realizar oito medições de calibre das arteríolas no plexo mucoso, no plexo submucoso e nos vasos retos (base, topo e ramos) no cárdia, no fundo e na região dos vasos curtos gástricos.

Estas oito cobaias constituíram um lote congruente, onde se conjugaram a sobrevivência à operação (sendo sacrificadas ao oitavo dia, com exceção de uma que requereu eutanásia humana ao quarto dia de pós-operatório) e a conformidade da moldagem vascular, que possibilitou a medição sistemática dos calibres arteriulares das camadas da parede do cárdia, do fundo e dos vasos curtos gástricos. A análise dos dados foi efetuada através do “*software*” *Statistical Package for the Social Science for Windows*, versão 16.0 (*SPSS Inc, Chicago IL*), pelo Gabinete de Análise Epidemiológica e Estatística do Centro de Investigação do CHLC, EPE.

A análise estatística (ANOVA) comprovou a minha expectativa, ao concluir que as arteríolas do plexo mucoso e do plexo submucoso no cárdia, no fundo e na região dos vasos curtos dilataram após laqueação dos vasos curtos gástricos. O aumento ocorrido no calibre microvascular do GE, tendo sido superior a 50% ao calibre do GC, foi

estatisticamente significativo. Na região dos vasos curtos, a diferença dos calibres, sendo mais pequena, persistiu estatisticamente significativa. Os vasos retos apenas dilataram na base do fundo gástrico, na sua emergência do plexo seroso.

A relatada vasodilatação arteriolar do fundo gástrico da cobaia após operação de Nissen – fundoplicatura total com laqueação dos vasos curtos gástricos –, constituirá acomodação à modificação operatória introduzida.

Admito que no ser humano também possa ocorrer vasodilatação arteriolar, na sequência da laqueação dos vasos curtos gástricos, pela analogia microvascular entre as duas espécies e que essa vasodilatação corresponda, igualmente, a um mecanismo de adaptação regional visando, por exemplo, suprir a perda incorrida pela laqueação.

Na operação de Nissen-Rossetti a fundoplicatura total causa hiperperfusão por aumento do fluxo sanguíneo médio e por aumento da amplitude e da frequência vasomotora. Aparentemente, o aumento de perfusão contribui para proteger a mucosa contra as consequências da sua exposição ao ácido. A associação experimental entre laqueação dos vasos curtos gástricos e realização de fundoplicatura total, que exerce aumento inerente de pressão sobre a JEG, não só não provocou défice da microcirculação do esófago distal ou do estômago proximal como desencadeou um mecanismo de vasodilatação fúndica que reforça o conceito de segurança da operação de Nissen para tratamento da DRGE.

PARTE I: TRATAMENTO CIRÚRGICO DA DOENÇA DO REFLUXO GASTRESOFÁGICO

Capítulo 1 – A Doença do Refluxo Gastresofágico

Epidemiologia

A doença do refluxo gastresofágico (DRGE) estabelece-se quando o refluxo do conteúdo gástrico para o esófago causa sintomas perturbadores – dor, pirose, tosse, queixas respiratórias – e/ou surgem complicações subseqüentes.

O refluxo gastresofágico define-se como a passagem de conteúdo gástrico para o esófago, na ausência de vômito. Pode considerar-se fisiológico quando, em pequena quantidade, ocorre em adultos em período pós-prandial. Quando este facto é responsável pelo aparecimento de sintomas, de lesões da mucosa esofágica ou de manifestações extra-esofágicas o refluxo torna-se patológico.¹

Um terço da população mundial possui sintomas de refluxo pelo menos uma vez por mês e 4 a 7% refere-os diariamente. Trata-se de uma enfermidade cuja alta prevalência varia consoante a zona do globo, sendo mais elevada na América do Norte, Austrália e Europa Ocidental e mais baixa em África e na Ásia. Existe alguma tendência à desvalorização das queixas por parte dos doentes e dos clínicos. A maior parte dos doentes automedica-se com antiácidos ou com fármacos antissecretores, consultando o médico apenas quando as queixas se tornam mais intensas e persistentes.

Na incidência da DRGE não existem diferenças significativas entre os géneros. Os doentes têm, caracteristicamente, mais de 40 anos e nem todos têm hábitos tabágicos. A relação entre DRGE e o índice de massa corporal (IMC) foi avaliada em ensaios clínicos bem estruturados. Relativamente às mulheres com peso normal (IMC 20 a 22,4), a probabilidade de ocorrerem sintomas de DRGE é de um terço para as menos pesadas (IMC < 20) e de três vezes superior para as obesas (IMC > 30). Estudos de motilidade de alta resolução mostraram correlação significativa entre o IMC e os gradientes de pressão gastresofágica, fornecendo justificação fisiopatológica para a associação DRGE e IMC. Os obesos são mais propícios a padecerem de disfunção da junção esofagogástrica (JEG) e de gradientes anormais de pressão que favorecem o desenvolvimento de refluxo.²

Nas grávidas o aumento de pressão intra-abdominal favorece a existência de refluxo gastresofágico podendo este ocasionar sintomas que diminuem a qualidade de vida. Em crianças com menos de dois anos de idade o refluxo gastresofágico é acontecimento frequente devido à imaturidade do esófago e do estômago e ao tipo de alimentação predominantemente líquida, facilmente regurgitável. Nas crianças com mais de dois anos de idade a prevalência de RGE e de DRGE é sobreponível à dos adultos.³

Nos idosos, a DRGE tende a apresentar complicações mais severas. Isto deve-se, por um lado, à existência de morbilidade associada, que pode afetar o tónus do esfíncter esofágico por influência direta (diabetes, sequelas de AVC, doença de Parkinson) e/ou pela medicação concomitante; e, por outro, à menor mobilidade com recurso frequente à posição de decúbito, à alteração na mobilidade do trato gastrointestinal superior, com diminuição do esvaziamento gástrico, à diminuição do volume de saliva e da secreção de bicarbonato e à maior prevalência de hérnia do hiato.⁴

Os sintomas de DRGE podem classificar-se em típicos, como a pirose e a regurgitação, e atípicos, como a dor retroesternal, a disфонia ou rouquidão, as crises asmatiformes e a disfagia. Esta última, que ocorre em cerca de 30% dos doentes com DRGE, aparece, geralmente, como complicação tardia e traduz a existência de refluxo mais prolongado ou persistente e com lesão mais grave.

A natureza ácida do refluyente e, sobretudo, a duração do seu contacto com a mucosa esofágica inferior, são as condicionantes fisiopatológicas subjacentes às lesões causadas por refluxo. A competência do esfíncter esofágico inferior (EEI), uma barreira física natural, é, assim, o fator de proteção determinante e de importância vital que contraria o refluxo do conteúdo gástrico.

Vários fatores contribuem para um funcionamento deficiente do EEI. Entre eles, encontram-se: fármacos que induzem o relaxamento do EEI, patologias sistémicas que alteram a motilidade do esófago, coibindo a limpeza esofágica, e alterações anatómicas que impedem a continência normal. Por outro lado, a suscetibilidade ao desenvolvimento de complicações na DRGE, sendo as mais graves o esófago de Barrett e a neoplasia, apresenta alguma variação individual, podendo existir algum fator hereditário implicado, sobretudo, na capacidade de regeneração celular da mucosa esofágica. Alguns estudos sugerem a influência de fatores genéticos na predisposição para a DRGE. Aparentemente, os genes responsáveis encontram-se localizados nos cromossomas 9 e 13 porém, ainda não foram identificados.

A qualidade do refluyente contribui de alguma forma para o desenvolvimento e características das lesões. Parecem existir diferenças nas manifestações clínicas sobretudo quando o refluxo é biliar ou de pepsina devido a lesão direta da mucosa esofágica. O sedentarismo, as dietas pobres em fibra vegetal, que condicionam obstipação crónica exigindo um maior esforço para defecação, os hábitos posturais incorretos, a obesidade e o tabagismo são fatores que perturbam a eficácia da barreira antirefluxo.

Fisiopatologia

A falência da barreira anatómica antirefluxo permite o regresso do conteúdo gástrico ao esófago.⁵ É uma alteração mecânica que pode ser causada pela disfunção do esfíncter esofágico inferior (EEI), pela perturbação do esvaziamento gástrico ou pela alteração da peristálise esofágica. Estas anomalias manifestam-se num espetro de doença que se expressa desde sintomas, como a pirose, até à lesão da mucosa esofágica, com ou sem complicações subseqüentes, como neoplasia do esófago, e à patologia das vias respiratórias. Os componentes chave da barreira antirefluxo compreendem o EEI, os pilares do diafragma e o ligamento frenesofágico.^{6,7}

Na DRGE intervêm múltiplos fatores. Alguns, como a agressão ácida ou as perturbações da motilidade, são determinantes. Outros, como a presença de hérnia hiatal e a resistência da mucosa, poderão assumir função importante no que concerne ao determinismo da sintomatologia e à diferenciação dos subgrupos da doença. Outros, ainda, de importância mais questionável, como o refluxo duodeno-gastresofágico, a secreção salivar e o *Helicobacter pylori*, poderão relevar apenas em alguns casos.

Secreção cloridropéptica

Diversas substâncias existentes no conteúdo gástrico que reflui para o lúmen esofágico provocam agressão na mucosa esofágica. O ácido clorídrico gástrico é o principal fator agressivo da mucosa esofágica mas, é, igualmente, deletéria a ação da pepsina, dos ácidos biliares, conjugados e não conjugados, e das enzimas pancreáticas (tripsina, lípase).

Os iões de hidrogénio, sendo o principal fator agressivo do refluyente em pH ácido, exercem a ação de forma dependente da concentração e do tempo de exposição. A taxa e o grau de lesão da mucosa ficam aumentados se o pH luminal for inferior a dois ou se estiver presente a pepsina. A pepsina, mesmo em pequenas concentrações, potencia, significativamente, a capacidade agressiva do ácido clorídrico. Todavia, a ação agressiva da pepsina, por si, parece ser reduzida. O grau de exposição esofágica ao ácido é determinante no aparecimento de lesões de esofagite em metade dos doentes com DRGE e no desenvolvimento das suas complicações, designadamente, o epitélio de Barrett. O refluxo ácido noturno tem importância fisiopatológica decisiva. A ocorrência de episódios de refluxo ácido noturno, mesmo sob terapêutica antissecretora, é um fenómeno frequente. É importante considerar este facto ao estabelecer a terapêutica nos doentes com dismotilidade esofágica ou com epitélio de Barrett.⁸

O refluxo ácido noturno, em posição supina, tem maior probabilidade de lesar a mucosa esofágica devido à perda do efeito da gravidade, à ausência de peristálise primária e à redução da salivacção que ocorre durante o sono.⁹ A percentagem de tempo com refluxo ácido é, significativamente, superior na DRGE complicada do que na não complicada.¹⁰ Estas diferenças devem-se, inteiramente, ao aumento do refluxo noturno em posição supina. Na maioria dos doentes os níveis de secreção clorídrica gástrica estão dentro dos índices de normalidade.

Alterações da motilidade

A agressão da mucosa esofágica é facilitada pelas alterações da continência do esfíncter esofágico inferior (EEI) que permitem que ocorra incremento do refluxo ácido para o lúmen esofágico. Nas anomalias da peristálise esofágica, consideradas fatores primordiais na eclosão da doença, aumenta o tempo de permanência da secreção refluyente no lúmen esofágico, facultando maior exposição, e conseqüente efeito deletério, da mucosa aos fatores agressivos.

Esfíncter esofágico inferior

O complexo valvular da junção gastresofágica responsável pela prevenção do refluxo resulta, basicamente, da ação conjunta de dois mecanismos: o músculo liso do esfíncter esofágico inferior (EEI) e os músculos estriados do hiato diafragmático. A DRGE pode, por conseguinte, representar incompetência do EEI.

Embriologia e anatomia da junção esofagogástrica

Pela sétima semana de vida embrionária a endoderme já formou o intestino anterior primitivo (“*foregut*”) que se encontra rodeado por mesoderme. Esta fornece o material necessário para formação de tecido conjuntivo, camadas musculares e tecido periesofágico. Neste estágio o esófago é curto; estende-se do esboço traqueal à dilatação do intestino anterior primitivo que originará o futuro estômago. O formato do esófago distal e da junção esofagogástrica (JEG) surge com o crescimento da grande curvatura gástrica. O crescimento dá-se por aumento da atividade mitótica na grande curvatura gástrica, originando e definindo melhor o fundo e o ângulo de His. O cárdia torna-se localmente fixo por ligamentos dorsais. Todas as estruturas de suporte e fixação se desenvolvem da massa de tecido da mesoderme. O septo transversal, que forma o diafragma, e a membrana paraesofágica diferenciam-se da mesma massa de tecido em torno do esófago distal.

As camadas musculares, longitudinal e circular, originam-se da massa de células da mesoderme e adotam o arranjo final no estágio fetal de 90 mm. Os neuroblastos da crista neural originam os *ganglia* que formam uma rede neural periesofágica à volta da camada muscular circular antes da camada longitudinal se diferenciar. O músculo do esófago distal fica formado por duas camadas. A camada mais interna é circular e constituída por feixes musculares incompletos que se sobrepõem. Na JEG as fibras da camada circular, assimetricamente espessadas, são responsáveis pela zona de altas pressões identificável por manometria. A camada longitudinal, mais externa, é paralela ao eixo do esófago e as suas fibras continuam-se através da JEG, juntando-se à musculatura gástrica longitudinal. Nesta área do esófago toda a musculatura da JEG é lisa.

A submucosa, que é a camada histológica mais forte, aglutina a camada muscular à mucosa. É composta por fibras elásticas e colagêneas e contém as redes de vasos e nervos. As glândulas esofágicas, profundas, penetram a muscularis mucosa e estendem-se à submucosa. A mucosa do esófago distal é formada por epitélio estratificado, com uma camada basal sobre a túnica própria. Aproximadamente, dois centímetros acima da junção anatómica o epitélio estratificado muda para epitélio cilíndrico. Chama-se linha Z ao aspeto serrilhado desta junção epitelial.

O suporte vascular da JEG provém da artéria gástrica esquerda, que distribui 2 a 6 ramos ao esófago distal, à face anterior do cárdia e à pequena curvatura proximal; e da artéria esplénica, que fornece a parede posterior do esófago e do estômago proximal. A inervação do esófago provém dos nervos vagos que formam um plexo em torno do esófago distal antes de originarem os troncos vagais principais.

O hiato esofágico é uma abertura elíptica na parte muscular do diafragma. Posteriormente, os feixes do hiato são formados pelos pilares do diafragma. Os pilares originam-se na face anterior dos corpos vertebrais lombares, de L1 a L4, à direita, e de L1 e L2, à esquerda. Anteriormente, inserem-se no ligamento transversal do tendão central do diafragma. A configuração do hiato do esófago é variável. Em 50% dos indivíduos ambos os feixes são formados pelo pilar direito. Em 44% dos casos o feixe esquerdo origina-se do pilar direito, enquanto o direito se origina de ambos. A estrutura dos pilares é músculo-tendinosa, sendo mais tendinosa junto da inserção vertebral. Desta noção decorre uma importante consideração técnica porque as suturas para

reparação de um hiato alargado devem ser colocadas profundas para incluir a porção tendinosa dos pilares.

A JEG é mantida no lugar pela membrana frenesofágica. Desde a sua origem diafragmática esta membrana divide-se em duas camadas fasciais (superior, supradiafragmática, e inferior, infradiafragmática; a superior torna-se mais delgada com a idade),¹¹ para se inserir, superiormente, 2 a 4 cm acima do hiato, na submucosa do esófago e, inferiormente, na serosa gástrica e no ligamento gastrohepático. O espaço entre as camadas divididas da membrana está preenchido com tecido adiposo pré-cárdico. Este ligamento é mais visível nas crianças. Com a idade torna-se menos definível e infiltrado por gordura entre as fibras proximais e distais. O ligamento é virtualmente inexistente em doentes com hérnia do hiato de longa evolução. Em resumo, o tecido suspensor que mantém o esófago no hiato é constituído por pleura, fásia endotorácica subpleural, fásia frenesofágica proximal, fásia transversalis endoabdominal e peritoneu. O canal torácico situa-se, habitualmente, posterior e à direita da JEG; contudo, a *cisterna chyli* fica junto ao pilar direito do diafragma, sobre os corpos vertebrais de L1 e L2, quando existe uma grande hérnia do hiato. Ocasionalmente, pode ocorrer quilotórax por lesão dos grandes vasos linfáticos tributários do canal torácico.¹²

Junção esofagogástrica

O esfíncter esofágico inferior (EEI) regula o fluxo de alimentos entre o esófago e o estômago. O mecanismo esfínteriano da extremidade inferior do esófago é constituído pela musculatura lisa intrínseca do esófago e pela musculatura estriada do diafragma. Nos indivíduos normais e nos doentes com esofagite de refluxo, é o relaxamento transitório de ambos os esfíncteres, mais do que a redução de pressão do EEI, que constitui o principal mecanismo fisiopatológico de refluxo gastresofágico.

Considerações anatómicas

A barreira antirefluxo depende de várias estruturas da JEG. Os músculos intrínsecos do esófago distal, juntamente com as fibras fúndicas do estômago proximal constituem o mecanismo interno do EEI e o diafragma crural constitui o mecanismo externo. O ligamento frenesofágico ancora o esófago distal ao diafragma crural. Em condições normais o EEI tem, aproximadamente, 4 cm de comprimento. O diafragma crural, que forma o hiato esofágico, rodeia os dois centímetros proximais do esfíncter. Assim, parte dele fica no hiato esofágico e parte em posição intra-abdominal.¹³

Os músculos do EEI são mais espessos do que os do esófago adjacente. A espessura muscular não é fixa porém, está, diretamente, relacionada com a pressão do esfíncter. O EEI possui inervação rica, mas a distribuição neural é diferente da do resto do esófago. No EEI o plexo mioentérico distribui-se pelos vários planos musculares em contraste com o que sucede no corpo do esófago, onde o plexo fica entre as camadas musculares longitudinal e circular.

As fibras gástricas fúndicas ou oblíquas, localizadas abaixo do EEI, também contribuem para a barreira antirefluxo estando dispostas em C, com o setor fechado do C na grande curvatura e o sector aberto orientado para a pequena curvatura. Esta conformação das

fibras resulta num mecanismo valvular em aba (“*flap valve*”) através do qual a pressão no fundo gástrico cria uma saliência ou friso que pressiona o EEI aumentando a pressão deste.

O diafragma é constituído por uma parte costal, proveniente das costelas, e por uma parte crural, inserida na coluna vertebral. As duas partes do diafragma têm origem embriológica diferente. O setor crural progride a partir do mesentério esofágico e o costal desenvolve-se dos mioblastos originados na parede abdominal lateral. O diafragma crural forma um canal através do qual o esófago entra no abdómen. No ser humano este canal é, primariamente, formado pelo pilar direito do diafragma. As fibras externas do canal são orientadas em direção crânio-caudal e as fibras internas orientadas obliquamente. A contração do diafragma crural exerce ação de tenaz sobre o EEI, formando o mecanismo esfinteriano extrínseco.¹⁴

Pressão da JEG sob diversas condições fisiológicas

A pressão intraluminal da JEG expressa a força da barreira antirefluxo sendo, tipicamente, quantificada com referência à pressão intragástrica. Ambos, EEI e diafragma crural, contribuem para a pressão da JEG. Dado que ambas as estruturas estão, anatomicamente, sobrepostas, a pressão intraluminal poderá ser devida à contração de qualquer músculo. O registo contínuo da pressão revela que a pressão da JEG varia ao longo do tempo. Variações minuto a minuto são atribuídas a contrações do EEI. Estas flutuações, em regra, são pequenas, oscilando entre 5 e 10 mm Hg. Grandes flutuações, por contração do EEI, estarão associadas com a atividade do complexo motor do estômago. A pressão do EEI pode exceder 80 mm Hg, na fase três do complexo motor migrante, antes do início das contrações gástricas.¹⁵

Alterações na pressão da JEG estão também relacionadas com contrações do diafragma crural, em regra, associadas com a respiração. Cada inspiração aumenta a pressão da JEG. Este aumento é abolido por fármacos, como o curare, que paralisam o músculo esquelético. A amplitude do aumento da pressão durante a inspiração é, diretamente, proporcional à força de contração do diafragma crural. Durante a inspiração corrente a pressão da JEG aumenta 10 a 20 mm Hg e com a inspiração profunda o aumento é de 50 a 150 mm Hg. O diafragma crural também contribui para a pressão da JEG no decurso de outras atividades, além da respiração, como o esforço de elevação das pernas e o aumento da pressão abdominal. O diafragma também se contrai durante a tosse, a manobra de Valsalva e qualquer atividade física que aumente a pressão intra-abdominal. O diafragma crural pode mesmo manter uma zona de altas pressões na junção abdominotorácica em doentes sujeitos a ressecção cirúrgica do EEI.¹⁶

Controlo neural da contractilidade

O tónus muscular do EEI resulta de mecanismos neurogénicos e miogénicos. Parte substancial do tónus neurogénico no ser humano é devida a inervação colinérgica. Existem outros neurotransmissores, inibidores e excitadores, cuja importância fisiológica não é clara.

O tónus miogénico é mediado por movimentos de depósitos intracelulares de cálcio no músculo do esfíncter. A modulação do EEI que ocorre com a atividade do complexo motor é mediada pelo nervo vago. O relaxamento do EEI induzido pela deglutição é

regulado pelo SNC, especificamente, pelo núcleo dorsal do nervo vago. Os estímulos eferentes chegam ao esfíncter através do vago e do plexo mioentérico. O neurotransmissor pré-sináptico é a acetilcolina e o pós-sináptico é o óxido nítrico; o péptido intestinal vasoativo também contribui.

O diafragma crural, como o restante diafragma, é innervado pelos nervos frénicos. Embora o hiato diafragmático seja primariamente composto por músculos do pilar direito, é innervado por ambos os nervos frénicos, direito e esquerdo. A atividade inspiratória espontânea do diafragma crural é devida à atividade dos neurónios inspiratórios cujos corpos celulares se localizam no cérebro. Esta atividade é transmitida ao núcleo do nervo frénico, localizado na medula cervical. O controlo voluntário do diafragma tem origem nos neurónios corticais. O diafragma crural contrai-se uma fração de segundo mais cedo que o diafragma costal, facto que é fisiologicamente importante relativamente à sua função de barreira antirefluxo.¹⁷

Mecanismos sensores no esófago poderão regular o relaxamento reflexo do diafragma crural. Distensão do esófago e deglutição induzem relaxamento do EEI e inibição seletiva do diafragma crural. O relaxamento transitório do EEI, o principal mecanismo de refluxo, está, também, associado com a inibição simultânea do esfíncter e do diafragma crural.

Importância fisiológica dos dois esfíncteres esofágicos inferiores

A justificação para a existência de dois esfíncteres esofágicos inferiores decorre da observação de que o gradiente de pressão entre o esófago e o estômago está em constante modificação. Como tal gradiente é a força condutora subjacente ao refluxo gastresofágico, a pressão da JEG tem de se adaptar, continuamente, para contrariar tais alterações. A resposta adaptativa é mediada por contrações quer do EEI quer do diafragma crural. No final da expiração o gradiente de pressão entre o estômago e o esófago é de 4 a 6 mm Hg. Por consequência, a pressão EEI normal de 10 a 35 mm Hg é suficiente para contrariar o gradiente. Durante a atividade do complexo motor migrante, as contrações gástricas aumentam o gradiente a favor de refluxo, então, a contração do EEI conjunta com a contração gástrica é importante na profilaxia do refluxo. A contração dos músculos inspiradores reduz a pressão intraesofágica e a contração da parede abdominal aumenta o gradiente de pressão a favor do refluxo gastresofágico. Em tais situações, contrações reflexas do diafragma crural aumentam a pressão da JEG.¹⁸

Mecanismos de refluxo gastresofágico

O refluxo do conteúdo gástrico para o esófago (RGE) é devido a defeito no mecanismo esfíncteriano da JEG. A existência de dois EEI poderá fazer intuir que a existência de fraqueza de qualquer deles poderá originar refluxo gastresofágico. Na verdade, alguns doentes de RGE, terão EEI fraco, outros, terão fraqueza do diafragma crural e outros, ambas. No entanto, existem doentes com RGE ligeiro a moderado (não erosivo), com pressões EEI e do diafragma crural normais. Alguns destes doentes terão mesmo pressões EEI mais elevadas que o normal.¹⁹

Em indivíduos normais e na DRGE, o mecanismo primário de RGE é o relaxamento transitório do EEI e do diafragma crural. O relaxamento transitório do EEI é um período

duradouro (prolonga-se de 10 a 60 segundos) de relaxamento simultâneo do EEI e do diafragma crural. Nos indivíduos normais, cujos EEI foram colocados a zero por meio farmacológico (atropina) ou estimulando os recetores faríngeos, o refluxo ocorreu apenas durante períodos de inibição transitória do diafragma crural. Estas ocorrências indicam que a ausência de pressão no EEI em indivíduos normais não induz RGE se a contração do diafragma crural for preservada.²⁰

O relaxamento transitório do EEI é regulado pelo sistema nervoso central. A via eferente é o nervo vago, sendo o óxido nítrico o neurotransmissor pós-ganglionar. O mecanismo de relaxamento transitório do diafragma crural é desconhecido. Distensão gástrica e estimulação faríngea são dois mecanismos possíveis pelos quais se pode originar o estímulo aferente de relaxamento transitório do EEI. Distensão gástrica, ortostatismo, decúbito lateral direito e refeições com elevado conteúdo em gordura podem aumentar a frequência dos relaxamentos. Um subgrupo de doentes com DRGE grave apresenta pressão EEI fraca e contrações esofágicas de baixa amplitude que resultam em dificuldade na limpeza do bólus ácido, em caso de refluxo. Desconhece-se se tal se deve a defeito primário ou é consequência de esofagite induzida pela acidez. A lesão esofágica induzida por acidez pode interferir com a contractilidade do esófago e o EEI. Todavia, em doentes com contrações de baixa amplitude e esofagite erosiva a cura da esofagite, não restabelece a contractilidade normal do esófago. Doentes com esclerodermia e doenças do tecido conjuntivo têm defeito similar devido à substituição do músculo esofágico por tecido fibroso.²¹

Hérnia do hiato e doença do refluxo

A maioria dos doentes com DRGE moderada a grave tem hérnia do hiato, circunstância em que uma porção do estômago se introduz no tórax. A hérnia do hiato já foi considerada sinónimo de DRGE. Em 1970, a DRGE foi relacionada com pressão baixa do EEI e a importância da hérnia do hiato foi reequacionada. A identificação de dois mecanismos esfínterianos tem ajudado a redefinir a importância da hérnia do hiato.

A hérnia hiatal pode promover o refluxo por vários mecanismos. Em primeiro lugar, impedindo a limpeza do ácido pelo esófago. Durante a deglutição o EEI relaxa, imediatamente, e mantém-se relaxado durante 6 a 8 segundos, tempo necessário para que a peristálise induzida pela deglutição progrida da extremidade superior do esófago à sua extremidade inferior. Deste modo, o esófago distal fica desprotegido, desde o início do relaxamento do EEI, até à chegada da contração esofágica.

Em segundo lugar, quando há hérnia do hiato o ácido gástrico fica retido no saco herniado em estreita proximidade do esófago. Quando a deglutição se inicia, como o EEI se relaxa, este ácido desliza para o esófago. Este processo pode repetir-se em deglutições subsequentes. A hérnia do hiato pode, também, causar refluxo quando a contração do diafragma crural durante a inspiração, e outras manobras físicas, conduz a compartimentação do estômago entre o EEI e o diafragma. Seguidamente, o ácido acumulado no saco herniário pode deslizar para o esófago através do EEI que se encontra enfraquecido, ou é forçado a abrir pela pressão pleural negativa. Menor pressão do EEI, na presença de hérnia do hiato, permite que o conteúdo se mova, mais facilmente, para o esófago. Em terceiro lugar, uma grande hérnia do hiato causa ampliação do hiato esofágico impedindo a habilidade do diafragma crural funcionar como esfíncter. Finalmente, nos doentes com grandes hérnias do hiato, a ausência do

mecanismo valvular, tipo aba, e a perda da porção intra-abdominal do esôfago são importantes fatores contribuidores para o refluxo.²²

Uma hipótese unificadora é a que integra a presença de hérnia do hiato, a menor pressão EEI e o relaxamento transitório do EEI. O acontecimento inicial será, provavelmente, o frequente relaxamento transitório do EEI, sucedido de episódios de RGE. A presença de ácido no esôfago causa esofagite que diminui a pressão do esfíncter e impede a contractilidade esofágica. Por sua vez, a esofagite encurtará o esôfago por contração longitudinal muscular induzida pelo ácido. Subsequentemente, desenvolve-se fibrose no músculo liso conduzindo a encurtamento permanente e a hérnia de deslizamento. A hérnia, então, alarga o hiato esofágico, impedindo a função esfíncter do diafragma crural. A presença de hérnia hiatal e um fraco esfíncter diafragmático introduz mecanismos de refluxo adicionais que exacerbam a esofagite. Apesar de plausível, a hipótese não está provada.

Resistência da mucosa, fatores integrantes

Sistema celular esofágico

O esôfago é revestido por epitélio estratificado pavimentoso, não queratinizante, com células proliferativas situadas, principalmente, na camada basal. Na doença do refluxo a mucosa responde sofrendo transformação glandular, processo, habitualmente, referido como metaplasia. Nestas alterações reconhecem-se várias categorias de epitélio: mucosa tipo juncional, semelhante à mucosa gástrica cárdica, apesar de, por vezes, possuir arquitetura distorcida e graus de atrofia variáveis; mucosa tipo fúndico, semelhante à mucosa do fundo gástrico, com glândulas especializadas; e, epitélio cilíndrico especializado que mostra, habitualmente, superfície viliforme coberta com células contendo muco, intercaladas com células caliciformes genuínas, enterócitos e, ocasionalmente, células de Paneth e células neuroendócrinas. Pode ocorrer metaplasia intestinal tipo II na qual as células contendo muco não têm diferenciação enterocítica.

Junções intercelulares na função de barreira esofágica

As junções intercelulares desempenham papel fundamental na manutenção das defesas epiteliais do trato gastrointestinal. Através do trato gastrointestinal a principal barreira intercelular é criada pelas denominadas junções estreitas/impermeáveis (“*tight junctions*”) que se encontram posicionadas na extremidade apical. Esta barreira constitui uma vedação que impede o movimento paracelular de solutos e íons com dimensão superior a 15 *Ångström*. A estanquicidade da selagem possui seis graus de magnitude; entre o epitélio permeável (“*leaky*”), como o da vesícula biliar, e o impermeável (“*tight*”), como o do cólon.

A consequência funcional de uma junção estreita, mais cerrada, é a habilidade em manter os gradientes elétrico-osmóticos necessários ao transporte vetorial. A compreensão da base molecular da barreira paracelular das junções impermeáveis fundamenta-se na identificação de mais de 10 proteínas que são os componentes únicos da estrutura. Entre estas estão a ocludina, uma proteína transmembrana, um componente funcional de selagem que se localiza, precisamente, nos pontos de contacto célula a célula da junção impermeável; e a proteína ZO-1, diretamente, ligada à extremidade

citoplasmática da ocludina, e que é responsável pela infraestrutura e organização da ocludina nos contactos lineares, célula a célula, que são a base da selagem.

No esófago, contrariamente à maioria do trato gastrintestinal, não existem junções estreitas (“*tigh*”). Em vez de um epitélio cilíndrico polarizado, a mucosa esofágica normal é constituída por epitélio estratificado pavimentoso, não queratinizado. As células estão agregadas por desmosomas intercelulares. Os desmosomas não são contínuos à volta de cada célula mas são conexões isoladas (“*spot-like*”) que deixam muito do espaço intercelular aberto para difusão de solutos e água. Assim, a barreira transmucosa esofágica não se baseia numa única camada de células coordenada (“*polaried*”) mas, em pilhas de muitas células, criando espaços intercelulares longos e tortuosos desde a mucosa à membrana basal do epitélio.

Uma barreira maior adicional à lesão pelo refluxo de ácido clorídrico, pepsina, ácidos biliares e tripsina é formada, não pelas camadas de células estratificadas, mas pela concentração pré-epitelial de bicarbonato, de mucina e de fatores tróficos protetores como EGF e PGE-2.

Experimentalmente, a exposição ao ácido clorídrico conduz á perda gradual da diferença de potencial elétrico através da mucosa. A longo prazo, a perda desta função barreira está associada com necrose celular e inflamação; em contraste, a curto prazo surgem espaços celulares dilatados entre as células epiteliais esofágicas. A dilatação intercelular progressiva correlaciona-se com um aumento transepitelial de fluxo de manitol e sugere a base para destruição da barreira e exposição das células mais profundas aos constituintes tóxicos do refluxo gástrico. Com o tempo, o refluxo crónico pode conduzir a metaplasia Barrett, isto é a conversão do epitélio estratificado com os seus muitos desmosomas intercelulares em simples epitélio cilíndrico contendo estreitas junções intercelulares. Juntamente com esta transformação tem sido documentada a nova expressão da junção estreita da proteína ocludina. Embora as propriedades de barreira intercelular do epitélio metaplásico não tenham sido descritas, são esperadas serem muito mais estreitas do que no epitélio estratificado normal. Questão ainda por responder é a do mecanismo molecular pelo qual ocorre metaplasia no epitélio estratificado – cilíndrico, incluindo as alterações na regulação transcricional determinante, a todos os respetos, do fenótipo celular. A conversão de uma barreira paracelular baseada em desmosoma numa baseada em junção estreita é apenas uma manifestação da metaplasia sendo desconhecida a sua contribuição para a patologia e suscetibilidade a carcinoma.²³

Linhagem epitelial e transformação

O epitélio estratificado pavimentoso, não queratinizante, tem uma zona basal, não proliferativa, onde as células sofrem mitose e donde migram em direção à superfície luminal e se diferenciam na camada de células espinhosas (“*prickle cell layer*”) onde são achatadas à medida que atingem a superfície luminal e acumulam glicogénio.

Em resposta à lesão induzida pela DRGE, o epitélio estratificado sofre alterações reativas caracterizadas pelo alargamento da zona basal com aumento das figuras mitóticas, aumento do número e comprimento das papilas vasculares da lâmina própria e imaturidade das camadas celulares superficiais, incluindo reduzido conteúdo de glicogénio.

A lesão crónica por refluxo gastresofágico resulta na substituição adaptativa do epitélio estratificado nativo por epitélio cilíndrico, mais resistente, denominada metaplasia cilíndrica. A mucosa de Barrett tem uma ampla variedade de aspetos histopatológicos decorrente da heterogeneidade da arquitetura vilosa e glandular e da diferenciação epitelial. A mucosa de Barrett possui epitélio cilíndrico especializado tipo intestinal, caracterizado por células caliciformes (“*goblet*”) e células absorventes, de tipo intestinal, dispersas (“*interspersed*”) com células mucosas cilíndricas de tipo gástrico; a diferenciação anormal é também evidenciada pela presença de mucina de tipo intestinal, caracterizada por, histoquimicamente, corar as células mucosas cilíndricas de tipo gástrico, com a mucicarmina. É, em regra, evidente um gradiente de diferenciação entre a mucosa de Barrett com glândulas profundas tipo cárdico, o epitélio tipo intestinal nas glândulas superiores e o epitélio viloso que migra das glândulas.

A transformação do epitélio estratificado nativo em epitélio de Barrett ocorre devido a diferenciação alterada das células pluripotenciais (“*stem cells*”) que são as células progenitoras. A localização das células pluripotenciais é controversa porque o uso de marcadores de diferenciação (citoqueratinas) indica a diferenciação mais do que o tecido de origem. São possibilidades: as zonas proliferativas de epitélio gástrico, as glândulas esófago-cárdicas, as glândulas da submucosa esofágica e o epitélio estratificado nativo.

Ilhas de epitélio estratificado pavimentoso, por vezes associadas a ductos de glândulas submucosas esofágicas, estão muitas vezes presentes na mucosa de Barrett, devido a substituição incompleta do epitélio estratificado nativo ou a diferenciação estratificada de células pluripotenciais. Interações entre o epitélio e o estroma, incluindo *lamina propria* e *muscularis propria*, contribuem de forma mal definida mas, provavelmente, com papel chave, na morfologia da mucosa de Barrett. A transformação neoplásica da mucosa de Barrett é uma importante, mas rara, complicação da DRGE. O epitélio cilíndrico especializado tipo intestinal é o único tecido com predisposição a degenerescência maligna. A displasia epitelial cilíndrica, uma proliferação epitelial neoplásica, é o precursor para adenocarcinoma numa metaplasia intestinal epitelial cilíndrica. Os factos morfológicos de displasia incluem alterações na arquitetura, epitélio e célula.²⁴

Bases fisiológicas da motilidade esofágica

O EEI mantém-se encerrado em repouso, impedindo o refluxo gastresofágico. Na deglutição, o corpo esofágico propaga uma contração peristáltica (peristálise primária) e o EEI relaxa-se. O tónus EEI é devido a características celulares específicas do seu músculo liso, o tónus miogénico. *In vivo* os nervos que inervam o EEI desempenham uma função crítica na determinação da força de encerramento.

O EEI recebe inervação quer excitadora quer inibidora. A inervação excitadora depende dos neurónios motores vagais que fornecem inervação pré-ganglionar aos neurónios excitadores pós-ganglionares presentes no plexo nervoso intramural do EEI. Os neurónios pré-ganglionares são colinérgicos por natureza e usam neurotransmissores sinápticos nicotínicos nas suas sinapses com os neurónios pós-ganglionares. Os neurónios excitadores pós-ganglionares são também colinérgicos. Os nervos simpáticos

forneem fibras pós-ganglionares que suprem inervação adrenérgica direta ao músculo liso e, também, via neurónios excitadores colinérgicos intramurais.

A inervação inibidora do EEI é derivada dos neurónios vagais pré-ganglionares cujos corpos celulares estão localizados no núcleo ambíguo do vago, numa área que é diferente da localização da via vagal excitadora. As fibras pré-ganglionares da via vagal inibidora também são colinérgicas. Ativam os neurónios inibidores pós-ganglionares via recetores nicotínicos e muscarínicos M1.

Os neurónios inibidores pós-ganglionares são largamente VIPérgicos e nitricoérgicos. Atuam libertando um péptido, VIP, e um produto tipo óxido nítrico via L-arginina óxido nítrico sintetase. Os neurónios intramurais no EEI também recebem fluxo (“input”) de outros neurónios intramurais do esófago ou do estômago. Normalmente, ambos os nervos excitadores estão ativos no EEI, mas a atividade neural excitadora é superior à atividade inibidora. Assim, a supressão de atividade muscarínica excitadora conduz a ação não oposta dos nervos inibidores que produzem marcada redução do tónus do EEI. Por outro lado, uma redução seletiva na atividade inibidora do nervo conduz a hipertensão do EEI devida a atividade não oposta dos neurónios colinérgicos pós-ganglionares. O aumento reflexo do tónus do EEI é devido ao acréscimo da atividade colinérgica excitadora. A redução reflexa do tónus do EEI, durante o reflexo de deglutição, do vômito e da eructação, e o conhecido relaxamento inapropriado do EEI, ocorrem devido à atividade dos nervos inibidores. Hormonas circulantes e agentes locais bioativos atuam sobre os recetores do músculo liso EEI e os nervos, para modular o restabelecimento do tónus. Muitos destes efeitos são, farmacologicamente, importantes em estados patológicos. A peristálise esofágica também envolve estreita interação dos nervos excitadores e inibidores produzindo excitação e inibição sequencial do músculo circular esofágico. A disfunção destes nervos conduz a perturbação da peristálise do esófago.²⁵

Atividade motora esofágica na esofagite de refluxo

Sendo o ácido clorídrico o agente pernicioso major do refluyente, a gravidade da esofagite depende da duração do tempo em que o esófago fica exposto ao material ácido. O tempo de exposição esofágica ácida, ou tempo de refluxo ácido, é função da frequência dos episódios de refluxo e da duração de cada acontecimento refluxivo. A frequência dos episódios de refluxo é determinada pelos fatores que impedem a barreira antirefluxo. Por outro lado, a habilidade em limpar o episódio individual de refluxo ácido e o tempo de limpeza do ácido é condicionada pela atividade peristáltica do esófago e pela capacidade de neutralização salivar. Normalmente, uma ou duas contrações peristálticas limpam a maior parte de um bólus ácido, do esófago para o estômago, sem modificar o pH esofágico. Esta limpeza inicial do bólus ácido denomina-se limpeza-volume. Apesar de a maioria do volume de ácido ser eliminada do esófago, uma pequena quantidade de ácido fixa-se à superfície mucosa esofágica e à sonda pH sendo clarificada pelas deglutições subsequentes (neutralização ácida). É a saliva, que acompanha as deglutições, que neutraliza o ácido e restaura o pH esofágico normal. Substituir a saliva por água prolonga, marcadamente, a limpeza ácida.

Estas observações sugerem que há substâncias na saliva que podem neutralizar o ácido no esófago. 50% da capacidade de tamponamento da saliva parece ser causada pelas proteínas salivares. A redução do fluxo salivar com atropina prolonga o tempo de

limpeza ácida, e agentes como o betanecol, que estimula a secreção salivar e a produção de bicarbonato, aceleram, marcadamente, o tempo de clarificação ácida. O tempo de limpeza ácida está, substancialmente, prolongado durante o sono quando cessa a salivação. Limpeza-volume e neutralização ácida são ambas importantes na clarificação do ácido do esófago. A importância da limpeza-volume pode ser reconhecida pelo facto de 15 ml de bólus ácido necessitarem de 105 ml de saliva para neutralização, na ausência do mecanismo de limpeza-volume. Sendo a frequência basal de secreção salivar de, aproximadamente, um mililitro por minuto, a referida neutralização levaria 1 hora e 45 minutos. Porém, a limpeza-volume, 10 a 15 deglutições a intervalos de 30 segundos, repõe o esófago normal.

Um ensaio mostrou que não existe diferença na função salivar de repouso entre os indivíduos normais e os doentes com DRGE. Contudo, o fluxo salivar fica reduzido com a idade. O tabaco reduz a secreção salivar e a sua concentração de bicarbonato explicando, talvez, parcialmente, o efeito deletério do fumo de tabaco sobre o esófago. O fluxo salivar aumenta em resposta à instilação ácida no esófago. Este reflexo esófago-salivar é, de novo, função da idade e parece que à medida que se envelhece, o reflexo do aumento da secreção salivar se vai reduzindo. Este reflexo esófago-salivar poderá estar ausente nos doentes com esofagite grave podendo contribuir, de modo importante, na patogénese da DRGE.²⁶

O esófago e o ácido

Considerando o tempo total de exposição ao refluyente gástrico a $\text{pH} < 4,0$, os doentes com esófago de Barrett tem exposição, significativamente, superior à dos que têm esofagite não Barrett, e estes, por sua vez, têm-na superior aos controlos normais. Os constituintes do refluyente que lesam a mucosa, e a sua relativa importância e interação, persistem não claros, assim como a controvérsia acerca do componente que provoca a gravidade da esofagite.

Na experimentação animal, o ácido a $\text{pH} > 1,3$, apenas, não causa lesão mas, a adição de uma pequena quantidade de pepsina resulta em lesão imediata que, é máxima a $\text{pH} 2,0-3,0$ (pH de pepsina ótimo). O suco gástrico é, similarmente, lesivo em pH da mesma grandeza. Contudo, a diálise prévia do suco aumenta a lesão sugerindo a remoção de inibidores de pepsina ou de substâncias protetoras não identificadas.

A $\text{pH} < 4,0$, a tripsina (inativa) não causa lesão mas, causa-a sob condições alcalinas ($\text{pH}=6,5-8,5$). Os sais biliares conjugados podem causar lesão a $\text{pH}=2,0$ mas, não a $\text{pH}=7,0$; enquanto os sais biliares não conjugados causam lesão apenas a $\text{pH}=7,0-8,0$. A lisolecitina também só é lesiva em pH ácido. Paradoxalmente, aumentando a concentração de pepsina para 10%, ou adicionando concentrações progressivas de sais biliares conjugados, reduz-se uma lesão causada por uma solução de pepsina a 2% a $\text{pH}=2,0$. Nos seres humanos, o refluxo duodeno-gastro-esofágico causa esofagite apenas na presença de ácido e causa pirose, sem lesão macroscópica, a pH alcalino. Por isso, o ácido modifica os efeitos lesivos do refluyente mas, os mecanismos pelos quais o faz, permanecem incompletamente compreendidos.²⁷

Pepsina e esôfago

Há evidência de que a perfusão ácida, apenas, em concentrações de pH=1,3 ou superior, não produz esofagite. A adição de pepsina ao ácido entre pH=1-3,5 causa considerável lesão aguda esofágica. A lesão causada pela pepsina acidificada pode ser, consideravelmente, agravada por adição de aspirina ou outro anti-inflamatório não esteróide, possivelmente, por lesão adicional da barreira da mucosa. A evidência acerca da ação da pepsina na esofagite clínica é circunstancial. Só a profunda supressão de ácido com IBP para valores de pH > 3,5, acima da zona da pepsina, é eficaz a tratar a esofagite.²⁸

Semiologia clínica

A pirose e a regurgitação são os sintomas típicos da DRGE. Têm elevada especificidade (89% e 95%, respetivamente), mas baixa sensibilidade (38% e 6%) para o diagnóstico de DRGE²⁹. Uma história clínica exemplar associa uma sensibilidade de 78% e uma especificidade de 60%.

Categoria	Sintomas	Observações
A	<ul style="list-style-type: none">• Pirose• Regurgitação	Sintoma mais frequente Agrava com o decúbito
	DRGE complicada	
B	<ul style="list-style-type: none">• Disfagia grave• Odinofagia (dor à deglutição)• Dor torácica (simula dor coronária)• Hematemese e melenas	Estenose, obstrução mecânica DRGE grave Úlcera mucosa extensa Esôfago de Barrett / adenocarcinoma?
C	<ul style="list-style-type: none">• Disfagia orofaríngea• Asma• Dor torácica recorrente• Rouquidão• Faringite	Semiologia extra-esofágica Sem relação com esofagite Presente em 20 a 25% da DRGE

Tabela 1 – Semiologia clínica na DRGE

Pirose

Quando o ácido reflui para o esôfago estimula as fibras nervosas esofágicas. Essa estimulação nervosa traduz-se, em regra, em pirose que é a dor característica e a manifestação mais frequente da DRGE.³⁰ A pirose é sentida como ardor ou queimadura retroesternal, no terço médio do tórax. Habitualmente, inicia-se no epigastro, podendo irradiar ao longo do esôfago até ao pescoço.³¹ Tal situação pode mimetizar a dor cardíaca (angina). Noutros doentes a dor irradia para a região dorsal. Como o refluxo ácido é mais frequente após refeições, a pirose é mais comum nestas ocasiões. Surge, caracteristicamente, 15 a 60 minutos após o repasto, especialmente, se este for abundante. A pirose é mais frequente no decúbito porque, sem o efeito da gravidade, o refluxo ocorre mais facilmente e o ácido retorna ao estômago mais lentamente. É aliviada pela toma de fármacos antiácidos e antissecretores.

A pirose é um sintoma crónico; quase sempre recidiva. Não raro, é possível identificar conexão entre o aparecimento de pirose e fatores, reconhecidamente, associados ao

refluxo gastroesofágico. Os precipitantes mais frequentes são o álcool, o chocolate, as gorduras, o mentol, os sumos de citrinos, o café, o tomate, o tabaco, a flexão do tronco, o uso de roupas apertadas na cintura, o decúbito após refeições e os medicamentos (antagonistas α -adrenérgicos, diazepam, nitratos, progesterona, relaxantes do músculo liso).

Regurgitação

A regurgitação consiste no retorno à boca do conteúdo gástrico/esofágico, na ausência de esforço, náuseas ou contração abdominal. Surge, frequentemente, associada ao decúbito, após uma eructação ou em circunstâncias em que há um aumento de pressão intra-abdominal. Na DRGE, em regra, apenas pequena quantidade de líquido atinge e mantém-se no esófago distal. Ocasionalmente, uma maior quantidade de reflúo, por vezes contendo alimentos, atinge o esófago proximal.

Náuseas

Na DRGE as náuseas são raras. Em alguns doentes, porém, podem ser frequentes ou intensas. A DRGE pode ser suspeita num enfermo com náuseas e/ou vômitos, sem explicação. Não é claro o motivo por que alguns doentes com DRGE ostentam, essencialmente, pirose e outros apresentam, principalmente, náuseas.³²

A intensidade de um sintoma, como a pirose, é importante quando se avalia a severidade da DRGE. Esta manifesta-se num contínuo de gravidade, podendo os doentes ser classificados de acordo com uma escala de pontuação dos sintomas e de intervenções necessárias para os controlar. De acordo com a pontuação obtida, Tabela 2, a DRGE classifica-se em ligeira (1-7), moderada (8-15), acentuada (16-23) e severa (24-32).

	1 ponto	2 pontos	3 pontos	4 pontos
I Frequência	Ocasional Até mensal	Várias vezes / mês	Semanal	Diária
II Duração	< 6 meses	> 6 meses < 24 meses	> 24 meses < 60 meses	> 60 meses
III Gravidade	Ligeira (Incomodativa)	Moderada (Limitante)	Acentuada (Interfere com vida normal)	Severa (Insuportável)
Método: a soma do valor da frequência com o da duração é multiplicada pelo da gravidade Pontuação: mínima=2 e máxima=32				

Tabela 2 – Classificação da DRGE. Escala de pontuação dos sintomas

Na DRGE ligeira, os doentes apresentam pirose ou regurgitação pouco intensas que agravam com o decúbito. Estes doentes são, eficazmente, tratáveis com alterações do estilo de vida. A DRGE moderada inclui os doentes com queixas mais intensas de pirose e disfagia ligeira. O tratamento médico inclui a inibição da secreção ácida gástrica e o reforço da contractilidade esofágica e gástrica. Na DRGE acentuada (esofagite mais grave), o recurso a um inibidor da bomba de prótons cura 80% dos enfermos. A DRGE severa caracteriza-se pela falência do tratamento médico no

controlo dos sintomas ou pela progressão patológica da doença. Nestes casos há indicação para tratamento cirúrgico.³³

Complicações da DRGE

As complicações da DRGE classificam-se em esofágicas e extra-esofágicas. A incidência da DRGE complicada de úlcera ou estenose é de 5,6 por 100.000 habitantes.³⁴

Os fatores patogénicos que condicionam o aparecimento de complicações são comuns ao refluxo (diminuição da pressão do EEI, alterações da motilidade, hipersecreção ácida, aumento da exposição da mucosa esofágica ao ácido e refluxo alcalino duodenogástrico).³⁵ A ação dos anti-inflamatórios não esteroides e do ácido acetilsalicílico na gênese das formas complicadas da DRGE é controversa; no entanto, existem estudos que referem o aparecimento de estenose e úlcera induzidas por estes fármacos.³⁶ As complicações esofágicas da DRGE resultam da suscetibilidade do epitélio do esófago à agressão cloridropéptica. Compreendem a esofagite, a úlcera, a estenose, o anel de *Schatzki*, a hemorragia e o epitélio de Barrett o qual, pode evoluir para displasia e adenocarcinoma.

Úlcera esofágica

O refluxo lesa as células da mucosa do esófago. O organismo responde da forma com que, habitualmente, reage à agressão, ou seja, com inflamação (esofagite). Se a agressão penetrar, profundamente, no esófago, constitui-se uma úlcera que se localiza, predominantemente, na junção do epitélio estratificado pavimentoso com o epitélio cilíndrico. A maioria dos doentes apresenta úlceras superficiais e uma minoria, 2% a 7%, desenvolve úlcera profunda, com atingimento da camada muscular. A úlcera pode manifestar-se por odinofagia ou por dor retroesternal intensa, ocorrendo disfagia em 60% dos casos.

As úlceras, e a inflamação adicional que provocam, podem erodir os vasos sanguíneos do esófago e ocasionar hemorragia. Por vezes, a hemorragia pode atingir critérios de gravidade e implicar tratamento endoscópico ou cirúrgico. Muito raramente, a úlcera pode complicar-se de perfuração manifestando-se por dor torácica intensa, dispneia e choque. O diagnóstico diferencial com úlcera de outra etiologia é necessário e deverá incluir sempre endoscopia e biópsia. As úlceras da esofagite péptica são, geralmente, grandes, solitárias e de localização distal. As de etiologia infecciosa são punctiformes e difusas. As provocadas por fármacos são únicas, profundas e poupam a porção distal.

Estenose esofágica

As úlceras curam com formação de cicatriz (fibrose). Com a passagem do tempo, a cicatriz retrai e estreita o lúmen do esófago. O estreitamento cicatricial designa-se estenose. A estenose péptica representa uma sequela tardia e grave da DRGE. A morbidade associada à presença da estenose é elevada, devido à sua evolução crónica e recidivante e ao risco de complicações como: epitélio de Barrett (presente em 44% dos casos), hemorragia, aspiração brônquica e, ainda, perfuração (que pode dificultar uma eventual dilatação endoscópica). As estenoses pépticas são, geralmente, curtas, com menos de 2 cm, podendo, por vezes, assumir a forma anelar e localizam-se, em regra, no

esófago distal, embora possam estender-se em sentido proximal, nomeadamente, quando existe epitélio de Barrett.³⁷

Quando o estreitamento se torna, suficientemente, grave (um centímetro de diâmetro), os alimentos deglutidos podem impactar no esófago causando disfagia por sólidos, nomeadamente, carne e pão. Para prevenir o impacto alimentar, a zona estenosada deve ser dilatada. O refluxo deve ser tratado para obstar à recorrência de estenose.

Anel de Schatzki

O anel de *Schatzki* é uma estrutura fibrótica anelar da submucosa, localizada acima do nível da junção esofagogástrica, que surge associada a hérnia do hiato. A sua etiologia não se encontra, claramente, esclarecida, mas existem argumentos a favor da DRGE, como a maior prevalência de erosões no rebordo do anel. Provavelmente, trata-se de uma estenose simples, fibrosa, resultante de esofagite circunferencial e limitada a um segmento curto.

Os doentes sintomáticos têm, geralmente, idade superior a 40 anos e referem queixas intermitentes de disfagia, podendo ocorrer episódios de impacto alimentar. O anel de *Schatzki* constitui causa frequente de disfagia por sólidos no adulto. A imagiologia é o método diagnóstico mais sensível para detetar esta lesão, que aparece em 6% a 14% dos exames radiológicos do esófago.

Hemorragia esofágica

A hemorragia digestiva na DRGE surge no contexto de esofagite erosiva extensa ou de úlcera profunda, manifestando-se, com frequência, em doentes alcoólicos, com alterações da hemostasia, ou com insuficiência hepática.³⁸ Indica a presença de lesão mucosa extensa e sugere a possibilidade de mucosa revestida por epitélio cilíndrico. Tem maior incidência nos doentes com idade superior a 80 anos. Estes doentes apresentam, com frequência, comorbilidades importantes e medicação múltipla que tende a agravar o prognóstico.³⁹ A hemorragia manifesta-se de forma aguda, por hematemeses e melenas, em 7% a 24% dos casos, e de forma insidiosa, por perdas ocultas, em 25% dos doentes com esófago de Barrett, podendo originar anemia ferropénica. Nas unidades de cuidados intensivos a hemorragia por esofagite é muito frequente, constituindo 25% das hemorragias digestivas altas.⁴⁰ Num hospital universitário francês a prevalência da hemorragia na DRGE foi de 8,2%, dez vezes mais frequente do que a estenose, sendo a segunda causa de hemorragia digestiva alta.⁴¹

Esófago de Barrett

Está bem estabelecida a associação entre DRGE, esófago de Barrett, displasia e adenocarcinoma. O esófago de Barrett representa a substituição do epitélio pavimentoso esofágico normal por epitélio cilíndrico metaplásico. Manifesta-se em 7% a 10% dos doentes com DRGE crónica e grave, na qual a repetida agressão da mucosa conduz a metaplasia intestinal⁴².

O epitélio cilíndrico especializado predispõe ao desenvolvimento de displasia da mucosa e, posteriormente, a adenocarcinoma. O esófago de Barrett é considerado condição pré-maligna, com risco de cancro, 50 a 100 vezes superior ao da população

geral. O risco de adenocarcinoma é de 0,5% por ano. A frequência de esófago de Barrett quadruplicou nas últimas décadas. São fatores de risco de desenvolvimento de esófago de Barrett etnia caucasiana, género masculino, antecedentes tabágicos, obesidade, idade acima de 50 anos e DRGE de evolução superior a 5 anos.

No esófago de Barrett é frequente a coexistência de EEI hipotónico, que permite o refluxo patológico, e de perturbação da peristálise, que diminui a limpeza esofágica. A inflamação crónica e a fibrose resultante podem conduzir a estenose no setor proximal do segmento envolvido. Apenas 4% dos doentes com esófago de Barrett têm sintomas: disfagia, dor torácica, hematemeses e melenas.

Hérnia do hiato esofágico

Os sintomas associados com as hérnias do hiato são, maioritariamente, causados pelo volume ocupado no mediastino pela hérnia: enfartamento pós-prandial, desconforto subesternal e para-esternal, dor pós-prandial, vômito pós-prandial, disfagia aguda – um sinal ominoso, sugestivo de volvo intermitente e perigo de estrangulamento –, anemia de causa desconhecida e por vezes observada nas grandes hérnias hiatais.

Complicações extra-esofágicas

As complicações extra-esofágicas da DRGE compreendem um conjunto variado de sintomas e sinais atípicos, com frequente agravamento noturno. Os sintomas atípicos suscetíveis de corresponder a manifestações extra-esofágicas da doença incluem: dor torácica não cardíaca, tosse noturna, asma, rouquidão, odinofagia, otalgia, soluços, laringite recorrente, estridor, disфонia, estenose subglótica, cárie dentária, perturbações do paladar.

As queixas extra-esofágicas devem preencher quatro critérios para serem consideradas complicações da DRGE: o refluxo e a complicação devem coexistir mais, frequentemente, que o simples acaso; os estudos fisiopatológicos devem demonstrar a existência de um mecanismo que explique a relação entre o refluxo e a complicação; entre o episódio de refluxo e o sintoma terá que existir uma relação próxima e imediata; uma terapêutica eficaz do refluxo deverá traduzir-se, também, numa melhoria da sintomatologia, comprovada por estudos controlados e randomizados. São apenas reconhecidas como complicações extra-esofágicas da DRGE: a tosse crónica, a asma, a laringite e as erosões dentárias.

Complicações respiratórias e otorrinolaringológicas

O esófago distal possui muitas terminações nervosas. A estimulação ácida de algumas provoca pirose e a de outras desperta tosse. Deste modo, o refluyente pode provocar tosse sem atingir a orofaringe. De maneira similar, o refluxo no esófago distal pode induzir constrição brônquica e desencadear crise de asma.

No esófago proximal situa-se o esfíncter esofágico superior (EES) que é um músculo circular muito semelhante ao EEI, na sua ação. Isto é, impede que o conteúdo esofágico

reflua para a orofaringe. Se, contudo, o líquido refluyente ultrapassar o EES, poderá aceder à faringe e à laringe. A inflamação resultante provocará lesão da faringe e rouquidão.

Ao atingir a laringe o refluyente poderá ser aspirado pelos pulmões. A aspiração poderá ser assintomática ou provocar tosse, dispneia e infeção pulmonar. Este tipo de pneumonia constituirá problema grave e necessitará de tratamento adequado, célere. Quando o líquido refluyente franqueia o EES atinge a orofaringe e causa sabor amargo na boca. Se ocorrer refluxo frequente, ou prolongado, para a boca poderão surgir erosões dentárias.

O diagnóstico de DRGE, exclusivamente, baseado na semiologia clínica apenas é correto em dois terços dos doentes.⁴³ A razão disto relaciona-se com o facto de estes sintomas não serem específicos da DRGE e poderem ser causados por outras doenças como acalásia, espasmo difuso, carcinoma de esófago, estenose pilórica, colecistolitíase, gastrite, úlcera gastroduodenal e doença coronária. Decorre desta circunstância a necessidade de confirmação do diagnóstico antes da decisão de tratamento cirúrgico.

Critério	Características	Valor diagnóstico
Sintomas	Típicos - pirose, regurgitação Atípicos - náuseas, vómitos, dor torácica, tosse, rouquidão	Inespecífico Sem sensibilidade
Endoscopia (esofágite)	Regurgitação = 90% Outras causas (fármacos) = 10% Refluxo sem esofagite	Inespecífico
pHmetria de 24h (< 4)	Quantifica a anomalia de base: maior exposição ao ácido gástrico	Objetiva a presença de RGE patológico

Tabela 3 – Valor da semiologia no diagnóstico da DRGE

Exames auxiliares de diagnóstico

Endoscopia digestiva alta

A junção esofagogástrica (JEG) é a região onde termina a mucosa esofágica, constituída por epitélio estratificado pavimentoso, e se inicia a mucosa gástrica, formada por epitélio cilíndrico. A mucosa da JEG coincide com a junção pavimento-cilíndrica (JPC). Na endoscopia, os critérios de mucosa da JEG são a extremidade distal das veias longitudinais esofágicas e a extremidade proximal das pregas da mucosa gástrica; e, na histologia, os critérios de mucosa da JEG são a extremidade distal da mucosa escamosa, a extremidade distal das glândulas e ductos esofágicos e a extremidade distal do epitélio de camada múltipla.

Na hérnia do hiato, na úlcera esofágica e no esófago com revestimento cilíndrico, a JPC sofre, frequentemente, deslocação proximal, em grau variável, afastando-se da mucosa da JEG. As referências endoscópicas nem sempre conseguem ser determinadas com exatidão pela existência de mucosa esofágica inflamada, cujo edema torna os vasos longitudinais invisíveis. Para reduzir o edema, os doentes devem ser tratados com IBP antes da realização de endoscopia.

A determinação da mucosa da JEG é, em regra, obtida através dos referidos critérios endoscópicos e histológicos. Por vezes, no entanto, os marcadores histológicos estão ausentes e a determinação da mucosa da JEG é incerta. Neste cenário o patologista necessita que o gastroenterologista lhe forneça: informação clínica; imagens endoscópicas; a localização da JPC e da relação entre a JPC e a JEG; a localização precisa do local da mucosa JEG que foi biopsada; e biópsias do estômago proximal, abaixo da JEG, e distal para análise comparativa.⁴⁴

A endoscopia digestiva alta (EDA) é o exame complementar de eleição nos doentes com pirose, regurgitação e suspeita clínica de gravidade pela existência: de disfagia ou odinofagia; de sintomas que persistem ou agravam, apesar da terapêutica; de sintomas extra-esofágicos; de sintomas esofágicos em imunodeprimidos; de tumor, estenose ou úlcera no estudo radiológico; de hemorragia ou anemia ferropénica.⁴⁵ A EDA possibilita: diagnosticar a gravidade da esofagite e as complicações da DRGE (úlceras, estenose e esófago de Barrett), biopsar qualquer lesão suspeita para caracterização histopatológica e, ainda, identificar patologia no estômago ou no duodeno, suscetível de causar sintomas de DRGE, como úlcera péptica, inflamação ou cancro.⁴⁶ A mucosa do esófago está inflamada em 60% dos doentes com pirose.

A identificação, por esofagoscopia, de uma área de eritema, claramente, demarcada da mucosa adjacente de aspeto normal (“*mucosal break*”) é considerada prova clínica objetiva de DRGE.⁴⁷ Esta lesão mínima da mucosa endoscópica é indicadora fiável de esofagite de refluxo.⁴⁸ A estenose péptica é, igualmente, evidência de DRGE, desde que tenha sido excluída malignidade por biópsias múltiplas.⁴⁹ A confirmação histopatológica de esófago de Barrett é evidência objetiva de DRGE.⁵⁰

A utilização da endoscopia no diagnóstico de esofagite, um dos indicadores da presença de DRGE, conduziu ao aparecimento de consensos e sistemas de classificação para descrever e classificar as aparências da mucosa esofágica. Uma das classificações de esofagite de refluxo mais utilizada é a de Savary-Miller, cuja versão original⁵¹ foi publicada em 1977 e, posteriormente, revista em 1981 e em 1989, passando a designar-se de Savary-Miller modificada ou de Savary-Monnier.⁵²

Estádio	Grau de lesão endoscópica
I	Erosão isolada (por vezes múltipla) eritematosa ou eritemato-exsudativa (única ou múltipla), oval ou linear, envolvendo uma única prega mucosa longitudinal.
II	Erosões múltiplas ou lesão exsudativa envolvendo várias pregas da mucosa, parcialmente, confluentes mas, nunca circunferenciais.
III	Lesão erosiva ou exsudativa circular.
IV	Lesões crónicas: úlceras, estenoses ou esófago curto, isoladas ou associadas às lesões dos graus I-III.
V	Epitélio de Barrett isolado ou associado a lesões dos graus I-IV.

Tabela 4 – Classificação de Savary-Miller modificada (1989)

A classificação de Los Angeles da esofagite de refluxo é um sistema mais recente. Tem a vantagem de descrever a extensão da esofagite de modo claro, simples e reproduzível, independentemente, da existência de outros critérios de gravidade. Foi desenvolvida por um grupo de gastroenterologistas que equacionaram os aspetos de esofagite que com segurança podem ser identificados numa endoscopia. O seu nome advém do local onde foi apresentada pela primeira vez, o 10º Congresso de Gastroenterologia em Los Angeles

em 1994.⁵³ Desde então sofreu ligeiras modificações podendo a versão definitiva ser observada na Tabela 5.⁵⁴

Estádio	Grau da lesão endoscópica
A	Uma ou mais soluções de continuidade da mucosa, inferiores a 5 mm, que não se estendem entre as extremidades de duas pregas diferentes da mucosa.
B	Uma ou mais soluções de continuidade da mucosa, superiores a 5 mm de extensão, que não se estendem entre as extremidades de duas pregas diferentes da mucosa.
C	Uma ou mais soluções de continuidade da mucosa, contínuas entre as extremidades de 2 ou mais pregas da mucosa mas, envolvendo menos de 75% da circunferência luminal.
D	Uma ou mais soluções de continuidade da mucosa que envolvem, pelo menos, 75% da circunferência luminal.

Tabela 5 – Classificação de Los Angeles (1994)

No sistema de Los Angeles, as complicações da DRGE crónica – úlcera, estenose, metaplasia cilíndrica (esófago de Barrett) são registadas em separado, quer estejam presentes, quer estejam ausentes. Alterações ligeiras como eritema, edema e friabilidade não se encontram incluídas e, o termo solução de continuidade (“*mucosal break*”) foi introduzido para englobar as anteriores designações de erosão e de úlcera.

Biópsia

A biópsia endoscópica do esófago não é um método útil para diagnosticar a DRGE. A especificidade e a sensibilidade da histopatologia variam com o aspeto endoscópico, o local e a qualidade dos fragmentos de biópsia.

A esofagite de refluxo é um processo inflamatório que se inicia no interstício e migra, gradualmente, para a superfície da mucosa. Os dados histopatológicos mais importantes são a hiperplasia das células basais – provavelmente, causada pelo aumento da renovação celular, como resposta à agressão do refluyente – e a proeminência das papilas. Assim, consideram-se critérios histopatológicos majores a hiperplasia da camada basal e a papilomatose, e critérios menores a acantose, a hiperqueratose, o edema intercelular e a congestão papilar. A biópsia é o único método para diagnosticar as alterações celulares no esófago de Barrett. A utilidade da biópsia é decisiva no diagnóstico de cancro e de outras causas de inflamação como infeções.

pHmetria de 24 horas ambulatória

O intervalo de tempo em que o esófago contém ácido é avaliado por pHmetria de 24 horas. Esta consiste no posicionamento, por via nasal, de uma sonda de medição de pH no esófago distal, cinco centímetros acima do EEI, ligada a um dispositivo de leitura que, por sua vez, dispõe de um ou mais botões, que ao serem acionados pelo doente, permitem o registo do início dos sintomas e a sua correlação com os valores de pH registados. Cada vez que o ácido reflui, do estômago para o esófago, estimula o sensor e o aparelho regista o episódio de refluxo. Após permanecer, *in situ*, durante 24 horas a sonda é retirada e os registos de refluxo são analisados.

Na ausência de critérios endoscópicos de refluxo, o teste padrão para diagnosticar refluxo gastresofágico é a pHmetria de 24 horas, sendo as variáveis de maior sensibilidade e especificidade o tempo total com pH inferior a quatro e o índice de

DeMeester constituído pelas seis variáveis: número total de episódios de refluxo; percentagem do tempo total de exposição ácida com pH inferior a quatro; tempo de exposição ácida em ortostatismo com pH inferior a quatro; tempo de exposição ácida em decúbito com pH inferior a quatro; duração do episódio mais longo; e número de episódios com duração acima de cinco minutos. Os quatro primeiros destes fatores avaliam a frequência e gravidade do refluxo, e os dois últimos avaliam a capacidade do esófago em expulsar o ácido.⁵⁵

A pHmetria de 24 horas veio permitir o estudo das relações temporais entre sintomas e episódios de refluxo e, também, avaliar a exposição ácida, em diferentes períodos do dia (noturno, diurno, pós-prandial) e o seu contributo para as lesões de esofagite.

A pHmetria de 24 horas tem outras utilidades no esclarecimento da DRGE, não se circunscrevendo apenas ao seu diagnóstico. Ajuda a determinar a razão da falência do tratamento médico quando este não suprime, adequadamente, a produção de ácido pelo estômago, com persistência sintomática. Alternativamente, a falta de resposta pode explicar-se por diagnóstico errado de DRGE. Em ambas as situações, a pHmetria de 24 horas pode ser profícua. Se identificar refluxo ácido substancial, apesar da medicação específica, a terapêutica instituída é ineficaz e necessita ser modificada; mas, se, pelo contrário, revelar boa supressão ácida, com refluxo ácido mínimo, o diagnóstico de DRGE poderá estar errado devendo pesquisar-se outra etiologia para os sintomas.

As indicações para realização de pHmetria de 24 horas compreendem: a avaliação do refluxo ácido patológico e da correlação sintomas/refluxo em doentes com exame endoscópico normal; a documentação da resposta à terapêutica em doentes, com persistência dos sintomas, sob terapêutica de inibição ácida (neste caso o registo deve ser feito com o doente mantendo a terapêutica); a deteção de sintomas associados ao refluxo ácido em doentes, com exame endoscópico negativo, e com dor torácica não cardíaca (nestes casos é preferível combinar a pHmetria de 24 horas com a manometria esofágica); a avaliação do refluxo ácido patológico, e da associação dos sintomas com o refluxo ácido, em doentes com endoscopia normal; a documentação do refluxo ácido patológico e da associação dos sintomas com o refluxo ácido em doentes que mantêm sintomas após cirurgia antirefluxo.⁵⁶

O estudo correto de algumas manifestações extra-esofágicas da DRGE implica a colocação de dois elétrodos de leitura do pH. O primeiro cerca de cinco centímetros acima do EEI e o segundo a nível da faringe (junto à entrada da laringe), eventualmente, sob visão direta, usando um fibrolaringoscópio transnasal, para estudo do refluxo laringofaríngeo, tanto no adulto como na criança.

Na caracterização da DRGE pode ser necessário recorrer à monitorização do pH com elétrodos triplos: um elétrodo no esófago distal e, outros dois proximais, numa sonda bifurcada, ficando um dos elétrodos colocado abaixo do esfíncter esofágico superior e outro na faringe.⁵⁷

Um novo método, para medição prolongada (48 horas) da exposição do esófago ao ácido, recorre a uma pequena cápsula de medição do pH intraesofágico, sem fios, que é posicionada no esófago, seis centímetros acima do EEI. O posicionamento da cápsula é obtido através de um tubo inserido pelo nariz ou pela boca. Após fixação da cápsula ao esófago, acima da JEG, o tubo é removido. A cápsula mede o refluxo ácido no esófago

e transmite a informação para um recetor transportado à cintura. Após dois dias, em regra, a informação do recetor é descarregada para computador e analisada. A cápsula (descartável) liberta-se do esófago após 3 a 5 dias e é eliminada com as fezes. A vantagem da cápsula sobre a pHmetria de 24 horas, padrão, é a ausência do desconforto provocado pelo cateter colocado através do nariz. Além do mais, com a cápsula, o doente sente-se normal e mais disponível para manter a sua atividade diária.

Manometria esofágica

A manometria esofágica é o melhor método para avaliar o desempenho e a pressão do EEI e a motilidade do esófago. É realizada colocando um cateter no lúmen do esófago, através do nariz e da faringe. Na extremidade intraesofágica do cateter existe um sensor de pressão. Quando os músculos do esófago se contraem, a pressão gerada no seu interior é detetada pelo sensor. A extremidade exteriorizada do cateter está ligada a um registador de pressões. Durante o exame, são avaliados a pressão em repouso, o relaxamento do EEI e as contrações do esófago, devendo, para tal, o doente deglutir golos de água. A manometria permitiu compreender que a esofagite de refluxo está associada aos relaxamentos transitórios do EEI ou à ausência persistente da pressão basal do EEI³².

É um importante meio complementar de diagnóstico pré-operatório nos candidatos a cirurgia antirefluxo. Possibilita excluir a presença de acalásia, caracterizar a motilidade esofágica, uma informação importante para decidir a opção operatória (funduplicatura total ou parcial) e, finalmente, ao precisar a localização do EEI orienta a colocação exata da sonda de pHmetria. Não há suporte na literatura para manometria pré-operatória de rotina e há opiniões que refutam a sua necessidade para adequar a confecção da funduplicatura.

Imagiologia

O estudo contrastado do esófago permite avaliar a anatomia do esófago, incluindo corpo e esfíncteres; documentar a presença e tamanho de uma hérnia hiatal, de uma estenose ou de um divertículo; analisar o esvaziamento esofágico e a existência de refluxo gastresofágico espontâneo ou provocado por manobra indutora. A ausência de refluxo radiográfico não exclui DRGE. Pouco sensível, este método deixou de ser exame de primeira linha.

Estudos de esvaziamento gástrico. Cintigrafia

Os estudos de esvaziamento gástrico analisam a forma como os alimentos são eliminados pelo estômago. Cerca de 20% dos doentes com DRGE têm esvaziamento gástrico lento, o que pode contribuir para o refluxo ácido. Neste exame, o doente ingere uma refeição marcada com substância radioativa. Um sensor, equivalente a um contador de *Geiger*, é colocado sobre o estômago para medir a rapidez do esvaziamento da substância radioativa ingerida. A cintigrafia não é um exame de rotina no estudo da DRGE. Pode ser útil na avaliação de um doente cujos sintomas persistem, apesar da

terapêutica de supressão ácida instituída; situação que poderá estar relacionada com anomalia no esvaziamento gástrico.

Teste de perfusão ácida

O teste de perfusão ácida (*Bernstein*) é usado para pesquisar se episódios de dor torácica são causados por refluxo ácido. Consiste na entubação do doente com sonda nasogástrica, com a extremidade distal colocada a 30 cm das narinas, para instilação de soro fisiológico durante 15 minutos, seguida pela infusão de uma solução de ácido clorídrico (0,1N) durante 30 minutos. O teste é positivo quando a administração ácida leva à reprodução dos sintomas do doente.⁵⁸ Atualmente, o teste de Bernstein é raramente usado. A pHmetria de 24 horas tornou obsoleto o seu uso na avaliação do refluxo.⁵⁹

Monitorização ambulatória da bÍlis no esófago

É inquestionável a importância do ácido e da pepsina na patogénese das lesões de esofagite de refluxo. No entanto, a evidência de eventual responsabilidade da bÍlis e dos seus constituintes tem sido controversa. O uso, desde 1993, do novo espectrofotómetro de fibra ótica (*Bilitec 2000*) tornou acessível o estudo do refluxo biliar, com razoável acuidade. Poderá existir ação sinérgica entre a bÍlis e o ácido, nos danos da mucosa esofágica⁶⁰, ainda que a bÍlis, isoladamente, não tenha capacidade de lesar a mucosa. O refluxo biliar, sem refluxo ácido concomitante, pode causar sintomas mas não está associado a esofagite nos doentes submetidos a gastrectomia parcial.⁶¹ A monitorização ambulatória da bÍlis no esófago tem indicação restrita no armamentário diagnóstico da DRGE. Poderá ser útil em doentes com hipocloridria (gastrectomia subtotal ou inibição ácida medicamentosa continuada) e nos refratários à terapêutica médica.³²

Impedanciometria

A impedanciometria é uma técnica para estudo da motilidade esofágica e do transporte do bolo alimentar,⁶² aplicada ao estudo do refluxo gastresofágico patológico.⁶³ Combina características da cineradiografia e da manometria, permitindo o estudo do refluxo ácido, não ácido, líquido, gasoso ou misto em registos ambulatórios de 24 horas.⁶⁴

Identifica-se o movimento de um *bolus* intraesofágico a partir de uma alteração da resistência à corrente elétrica através de pares de elétrodos adjacentes posicionados, seriadamente, ao longo de um cateter. O ar tem impedância elevada enquanto os líquidos possuem maior condutividade e menor impedância. Deste modo, a impedanciometria distingue o trânsito do *bolus* prógrado (deglutição) do retrógrado (refluxo), independentemente, da composição (líquido, gás, misto). Durante os relaxamentos transitórios do EEI o refluxo causa uma subida súbita da impedância que se propaga retrogradamente. O sensor de pH incorporado no cateter de impedância possibilita a identificação simultânea do conteúdo ácido e do não ácido. Sabendo-se que o refluxo não ácido pode explicar a existência de sintomas em doentes sob terapêutica de supressão ácida, a possibilidade do uso simultâneo da impedanciometria e da pHmetria trouxe um novo contributo na avaliação do contributo do refluxo não ácido neste grupo de doentes.⁶⁵

Teste com inibidor da bomba de prótons

O diagnóstico através da resposta dos sintomas a um tratamento específico designa-se ensaio ou prova terapêutica. O teste com inibidor da bomba de prótons baseia-se na eficácia desta terapêutica utilizada de forma empírica em doentes com pirose. Se ocorrer melhoria das queixas, o teste é positivo e o diagnóstico de DRGE deve ser equacionado. A severidade dos sintomas pode ser graduada por intermédio de uma escala visual analógica³². Quando o teste é positivo (melhoria de 50% a 75% nos sintomas) tem uma sensibilidade e especificidade diagnósticas comparáveis à pHmetria de 24 horas⁶⁶. O resultado do teste deve ser complementado com exames de diagnóstico destinados a excluir condições que possam mimetizar DRGE como a úlcera péptica, que tem tratamento diferente.

Algoritmo diagnóstico da DRGE

A endoscopia digestiva alta, com eventual biópsia, é o exame “gold standard” para diagnóstico de lesões esofágicas num doente com suspeita clínica de DRGE complicada. A dificuldade diagnóstica, no contexto da DRGE encontra-se no grupo de doentes sintomáticos com endoscopia normal. A pHmetria de 24 horas é o exame que confirma o diagnóstico da DRGE. Para diagnóstico, avaliação pré-operatória e prognóstico é necessário combinar as informações de endoscopia digestiva alta, pHmetria de 24 horas, manometria e, eventualmente, impedanciometria.

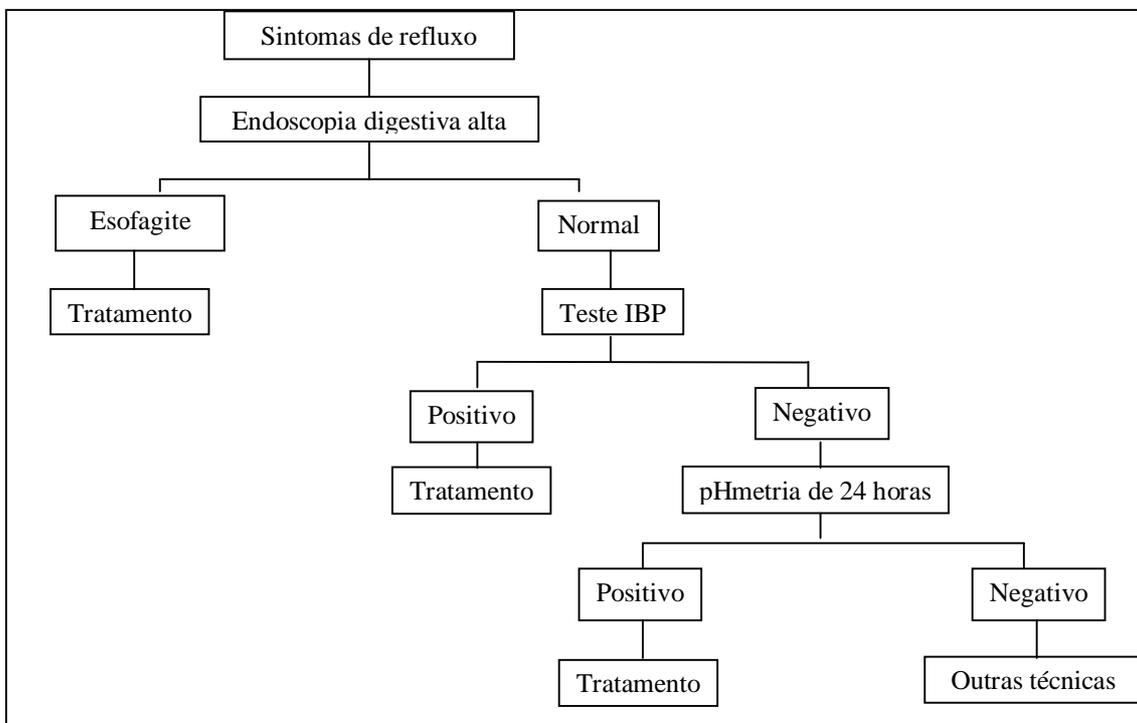


Tabela 6 – Algoritmo diagnóstico da DRGE (Modificado de Herwaarden e Smout)

Tratamento médico

A terapêutica da DRGE centra-se na modificação dos fatores de risco, inibindo a produção de ácido gástrico e potenciando a contractilidade esofágica e gástrica. Os doentes deverão ser aconselhados a modificar o estilo de vida, para diminuir a incidência de refluxo.

Os fármacos antissecretores, como os antagonistas dos recetores H2 da histamina e os inibidores da bomba de protões, deverão ser prescritos aos doentes com sintomas persistentes, sendo a escolha do fármaco baseado na gravidade da doença. Os antagonistas dos recetores H2 são eficazes na doença ligeira a moderada, enquanto os inibidores da bomba de protões são, habitualmente, reservados aos doentes com situação moderada a grave.⁶⁷ A eficácia da terapêutica antirefluxo é, inversamente, proporcional à gravidade da esofagite subjacente, ou seja quanto pior for a esofagite, mais fraca será a taxa de cura. Um tratamento eficaz na esofagite média pode ser ineficaz na esofagite grave.

Modificações do estilo de vida

É tradicional recomendar que o tratamento da DRGE comece por alterações do estilo de vida, destinadas a reduzir a exposição ácida do esófago. São poucos os dados que suportam a eficácia destas modificações do género de vida no controlo da DRGE. Acresce que é difícil controlar o modo como estas medidas são implementadas pelos doentes a quem são recomendadas. As advertências constam na Tabela 7.

Advertência	Razão
Elevar a cabeceira da cama (calços 10 a 15 cm).	Tirar partido do efeito da gravidade sobre a limpeza esofágica.
Perda de peso do obeso	A obesidade aumenta a pressão abdominal e promove o refluxo.
Evitar o decúbito nas 3 horas imediatas após refeição.	Os relaxamentos transitórios do EEI associados com refluxo gastroesofágico ocorrem mais, frequentemente, após refeições, e o decúbito retarda a limpeza esofágica do refluyente.
Evitar pequenas refeições na hora de deitar.	Ingerir antes de deitar pode provocar relaxamento transitório do EEI e estimular secreção ácida noturna, promovendo RGE que pode ser, particularmente, lesivo do esófago.
Evitar alimentos gordos, chocolate, hortelã-pimenta, cebola e alho.	Reduzem a pressão do EEI, retardam o esvaziamento gástrico e promovem o refluxo ácido.
Refeições frequentes e pouco volumosas	A distensão gástrica induz relaxamento do EEI.
Evitar fumo de tabaco e a ingestão alcoólica.	Reduzem a pressão do EEI. O fumo de cigarro reduz a salivagem que, é importante na limpeza do ácido no esófago.
Evitar bloqueadores de canais de cálcio e medicamentos com efeito anticolinérgico.	Reduzem a pressão do EEI e atrasam o esvaziamento gástrico.
Evitar anti-inflamatórios não esteróides.	Potencialmente cáusticos da mucosa esofágica

Tabela 7 – Alterações do estilo de vida

Terapêutica farmacológica da DRGE

Antiácidos / citoprotetores	Antisecretores	Procinéticos
Antiácidos	Antagonistas H2	Betanecol
Sucralfato	IBP	Metoclopramida
		Domperidona

Tabela 8 – Tratamento farmacológico da DRGE

Antiácidos

Os antiácidos provocam alívio sintomático de modo rápido e fugaz, sendo usados, empiricamente, pelos doentes, isolados ou como adjuvante de outra terapêutica antisecretora. Neutralizam o ácido no estômago e podem aliviar, temporariamente, a pirose ocasional. Todavia, a seu efeito é breve. Com o estômago vazio os antiácidos são eliminados em menos de sessenta minutos pelo que a sua toma deverá ser efetuada uma hora após as refeições. Para neutralização substancial do ácido ao longo do dia, estes fármacos necessitam ser administrados, frequentemente, pelo menos de hora-a-hora.

Os antiácidos são baseados em alumínio, magnésio ou cálcio. Os contendo alumínio provocam obstipação, enquanto os que contém magnésio tendem a causar diarreia. Os antiácidos contendo cálcio (carbonato de cálcio), uma vez esgotado o efeito direto da neutralização ácida, podem induzir “*acid rebound*” devido à libertação de gastrina gastroduodenal. Este efeito não é benéfico na DRGE pelo que o seu uso não é recomendado.

Citoprotetores

O sucralfato é um sulfato básico de hidróxido de alumínio e sacarose que adere às proteínas das lesões ulceradas e funciona como agente de citoproteção. Não atua como neutralizador do ácido nem interfere na secreção gástrica ácida. Tem a vantagem de possuir ação quelante sobre a pepsina e os sais biliares e de se ligar a alguns indutores tróficos como o fator epidérmico de crescimento e o fator de crescimento dos fibroblastos.⁶⁸ Tem bons resultados no alívio sintomático de formas ligeiras de esofagite mas, não está estabelecida a sua utilidade na terapêutica de manutenção. É um fármaco seguro, desprovido de toxicidade devido à sua absorção sistémica mínima e à sua estrutura química inerte.⁶⁹ Obstipação e náuseas surgem em 2% a 3% dos doentes. Na insuficiência renal podem surgir manifestações de toxicidade aguda pelo alumínio.

Antagonistas dos recetores H2 da histamina

Os antagonistas dos recetores H2 da histamina, ou antagonistas H2, bloqueando os recetores tipo 2 da histamina, impedem-na de estimular as células produtoras de ácido. Devem ser ingeridos 30 minutos após as refeições para que atinjam níveis séricos máximos quando o estômago se encontra a produzir, ativamente, ácido. Também devem ser tomados ao deitar a fim de suprimir a produção ácida noturna. Têm boa absorção oral atingindo picos plasmáticos em 60 a 90 minutos. Os picos plasmáticos são mais elevados mas, a semivida é idêntica, após administração parentérica.

Existem diferentes antagonistas H₂ incluindo: cimetidina, ranitidina, nizatidina e famotidina. A cimetidina é o fármaco menos ativo. A ranitidina, a nizatidina e a roxatidina são 4 a 10 vezes mais potentes que a cimetidina; e a famotidina atinge eficácia 20 a 50 vezes superior. Os antagonistas H₂ aliviam os sintomas em 32% a 82% dos enfermos. A ranitidina, na dose de 150 mg, duas vezes por dia, cura a esofagite erosiva em 82% dos casos. Este grupo de fármacos possui igual eficácia, em doses comparáveis, devendo ser tomados, pelo menos, duas vezes por dia. Por vezes, só com quatro tomas diárias se obtém o efeito terapêutico desejado.

Os antagonistas da histamina são seguros mas, possuem efeitos secundários. Influenciam a absorção de fármacos devido à sua ação sobre o pH gástrico. A cimetidina pode provocar alterações do estado mental e tem atividade antiandrogénica (ginecomastia) e inibidora do sistema do citocromo P-450, podendo alterar os níveis de fármacos metabolizados por esta via (ex. teofilina, varfarina, diazepam, fenitoína). A ranitidina causa menor número de interações medicamentosas do que a cimetidina. A sua utilização é, porém, limitada pelo desenvolvimento de taquifilaxia e pela sua interação farmacodinâmica com os alimentos.⁷⁰

Na DRGE ligeira e com boa resposta às enunciadas mudanças do estilo de vida, não são necessários medicamentos; os antiácidos estão indicados nos episódios ocasionais de pirose. Perante sintomas persistentes há indicação para prescrição de bloqueadores dos recetores H₂. Quando administrados em doses convencionais, aliviam os sintomas de DRGE, curando a esofagite, em doze semanas, em 60% dos doentes.

Com a introdução dos inibidores da bomba de prótons (IBP), cujo perfil e eficácia é, notoriamente, superior, os antagonistas H₂ passaram a desempenhar um papel complementar no tratamento da DRGE; por exemplo, a sua utilização associada com a toma de IBP, na eliminação da acidez gástrica noturna.⁷¹

Inibidores da bomba de prótons

Os inibidores da bomba de prótons (IBP) bloqueiam a via final comum de secreção, a bomba de H⁺, K⁺- adenosina trifosfatase (ATPase), obtendo 80% a 90% de inibição da secreção ácida no estado basal e pós-prandial.⁷² Comparando com os antagonistas H₂, os IBP têm a vantagem de bloquear, mais completa e duradouramente, a produção de ácido, sendo mais eficazes no tratamento da pirose e da esofagite.

Os IBP – omeprazole, lansoprasole, rabeprazole, pantoprasole, esomeprazole – têm mostrado ser muito eficazes no tratamento da DRGE. São equivalentes em eficiência e no perfil dos efeitos colaterais, devendo ser tomados uma hora antes da refeição, dado atuarem melhor quando o estômago se encontra a produzir, ativamente, ácido. A dosagem diária de 40 mg reduz a acidez gástrica em 80 a 90%. O esomeprasol parece ter taxa de cura, marginalmente, superior à dos congéneres quando usado em dosagem convencional.

Nos doentes com esofagite ligeira ou, moderadamente, severa tratados com IBP, em dose convencional, é de esperar taxa de cura de 80% a 100% em 8 a 12 semanas. Contudo, a esofagite grave persiste em 40% dos casos. Nestes casos de resistência obtém-se a cura aumentando a dosagem do IBP. Nos enfermos com estenose péptica do

esófago a supressão agressiva de ácido com IBP melhora a disfagia e reduz a necessidade de dilatação esofágica. Nos doentes graves que respondem aos IBP a DRGE recidivará pouco tempo após suspensão do medicamento pelo que, será necessário efetuar terapêutica de manutenção. A dose de manutenção necessária é, pelo menos, equivalente à requerida para a cura da esofagite, na maioria dos casos. Na DRGE grave, com a passagem do tempo, é, com frequência, necessário aumentar a dose de manutenção.

A supressão ácida profunda eleva o nível sérico de gastrina, hormona que exerce efeito trófico sobre o estômago e o cólon; e, tem o potencial de estimular a colonização do estômago, por bactérias que convertem os nitratos da dieta em nitrosaminas carcinogénicas. Tais efeitos podem contribuir para o desenvolvimento de neoplasia gástrica e colorretal. A supressão ácida continuada por IBP induz atrofia gástrica nos doentes infetados por *Helicobacter pylori* e, ainda, interfere com a absorção de vitamina B12. Apesar destas considerações teóricas, não têm surgido referências a tumores ou deficiências nutricionais, claramente, atribuíveis ao uso de IBP, após mais de duas décadas de ampla experiência clínica com estes fármacos. 80% dos doentes têm recorrência dos sintomas após seis meses de interrupção de qualquer forma de terapêutica médica. A cicatrização é inversamente proporcional ao grau de esofagite e, por isso, não é surpreendente a necessidade de se recorrer a doses mais elevadas nalguns enfermos. A falência do tratamento com IBP sugere outra patologia.

Diagnóstico incorreto
Supressão ácida inadequada (menos frequente com os IBP)
Inadaptação ao regime medicamentoso
Lesão induzida por medicamentos
Hipersecreção de ácido (síndrome de <i>Zollinger-Ellison</i>)
Atraso do esvaziamento gástrico
Refluxo biliar?

Tabela 9 – Causas frequentes de falência do tratamento na DRGE

Os efeitos secundários mais frequentes resultantes da utilização dos IBP são cefaleias, náuseas, dor abdominal e diarreia. A diarreia relacionada com o omeprazole (40 mg/dia) e o lansoprazole parece estar dependente da dosagem usada, sendo mais frequente com doses elevadas. Raramente, foram descritos casos de nefrite intersticial após terapêutica com omeprazole, e de hepatite em doentes em tratamento com omeprazole, pantoprazole, lansoprazole e rabeprazole. Alguns estudos focam a associação entre a má absorção de cálcio secundária à supressão ácida crónica por IBP e o aparecimento de fraturas relacionadas com osteoporose.⁷³

Procinéticos

Os procinéticos são fármacos que estimulam os músculos lisos do esófago, estômago, intestino delgado e cólon. Ao aumentarem a pressão do EEI, estimulem a motilidade esofágica e promoverem o esvaziamento gástrico reduzem o RGE e aliviam a pirose. Todavia, os efeitos sobre o EEI e a parede esofágica são ligeiros. São mais eficazes quando tomados 30 minutos antes das refeições e à hora de deitar. Não têm efeito sobre a esofagite.

O betanecol aumenta a pressão do EEI, exercendo ação colinérgica por estimulação dos recetores muscarínicos. A metoclopramida, antagonista da dopamina, tem alguma eficácia terapêutica nos doentes com DRGE ligeira. Contudo, o seu uso é limitado pelos seus efeitos colaterais incluindo agitação, sonolência, hiperprolactinémia, ginecomastia, galactorreia, irregularidades menstruais e, atravessando a barreira hematoencefálica, efeitos extrapiramidais – tremor, parkinsonismo e disquinésia –, de intensidade variável, em 30% dos doentes. A domperidona é desprovida destas desvantagens.

Tratamento antirefluxo endoscópico

As técnicas endoscópicas, capazes de promover a competência do EEI, minimizam ou impedem o refluxo ácido do estômago para o esófago e controlam os sintomas de DRGE. Existem três formas de terapêutica endoluminal para a DRGE: a sutura endoscópica, a radiofrequência e a injeção/implantação. O objetivo primordial destas técnicas é provocar a alteração da anatomia ou das propriedades mecânicas da JEG de forma a diminuir a frequência de episódios de refluxo e/ou o volume do material refluyente, causando um melhor controlo dos sintomas e um aumento da qualidade de vida. Nenhuma técnica endoscópica conhecida tem sido capaz de demonstrar eficácia equivalente à cirurgia antirefluxo.⁷⁴

Um dispositivo de funduplicatura endoscópica transoral, o *EsophyX, endogastric Solutions, Inc., Redmond, Washington*, testado em animal e num limitado número de doentes com DRGE, tendo sido eficaz na melhoria da qualidade de vida em pacientes com DRGE crónica ao reduzir os sintomas, diminuir a necessidade diária de IBP, reduzir a exposição ácida do esófago, aumentar a pressão de repouso do EEI e promover a cicatrização da esofagite.⁷⁵

A radiofrequência ao nível da JEG (procedimento *Stretta - Curon Medical*) liberta energia térmica que induz lesões térmicas, que estenosam os tecidos, reduzindo os sintomas da DRGE e, em consequência, o uso da medicação antissecretora. Promove a melhoria global da qualidade de vida destes doentes. Existem dois mecanismos possíveis para explicar o efeito terapêutico da radiofrequência na DRGE. A diminuição das dimensões da JEG – induzida pelo calor, a 65°C, devido à retração do colagénio desta zona, seguida pela deposição de colagénio após as lesões induzidas pela agressão local, o que potenciaria o efeito inicial –, e a destruição de fibras nervosas (neurólise). A neurólise eliminaria as fibras nervosas aferentes provenientes da JEG responsáveis pelo arco neural dos relaxamentos transitórios do EEI, o evento fisiopatológico dominante na DRGE. A neurólise poderia, igualmente, comprometer as vias aferentes responsáveis pelos sintomas maiores da DRGE, nomeadamente, a pirose. Com esta técnica os sintomas melhoram e, consequentemente, a qualidade de vida e o consumo de medicação pela conjugação destes fatores, sendo variável a contribuição de cada um. A radiofrequência parece desprovida de efeitos secundários porém, não deve ser recomendada em doentes com esofagite grave.

Capítulo 2 – A Cirurgia Antirefluxo

A terapêutica médica é eficaz no tratamento dos sintomas e das complicações da DRGE. Todavia, falha em 25% dos doentes. Por exemplo, apesar da adequada supressão de ácido, com alívio da pirose, a regurgitação pode persistir, com o respetivo potencial de complicações pulmonares. Por vezes, a dosagem, ou o número de medicamentos necessários para controlo satisfatório, é tão elevada que deixa de ser razoável insistir na terapêutica médica. Em tais situações, a cirurgia é alternativa terapêutica. O procedimento operatório destinado a impedir o refluxo gastroesofágico denomina-se cirurgia antirefluxo.⁷⁶

História da evolução da cirurgia antirefluxo

O primeiro caso de cirurgia antirefluxo foi realizado, com sucesso, por Nissen, em 1956, que rodeou, circunferencialmente, o esófago distal com fundo gástrico, calibrando a reparação com um calibrador intraesofágico.^{77,78} O procedimento viria a sofrer várias transformações. Para profilaxia da dilatação gástrica aguda, ou síndrome “*gas-bloat*”, surgiram as técnicas de funduplicatura parcial, nas quais o fundo gástrico contorna o esófago distal, incompletamente (até 270°), quer sobre a face anterior, como descrito por Dor, 1962,⁷⁹ quer sobre a face posterior, como descrito por Toupet, 1963.⁸⁰ A variante técnica, “*floppy*” Nissen, na qual a funduplicatura total é confeccionada, lassa, sobre um calibrador esofágico de diâmetro adequado, foi concebida para evitar disfagia pós-operatória.⁸¹ DeMeester modificou a operação de Nissen construindo uma funduplicatura total, curta (2 cm), sobre um calibrador, após divisão dos vasos curtos gástricos e, sequente, mobilização completa do fundo gástrico.⁸² A abordagem laparoscópica da doença de refluxo é, amplamente, aceite desde a realização da primeira funduplicatura de Nissen, com este método, por Dallemagne.⁸³ Ensaio randomizados têm confirmado a equivalência de resultados entre as duas vias, laparoscópica e laparotómica, no que refere à resolução dos problemas, objetivos e subjetivos, da DRGE; tendo a laparoscopia vantagem, por decorrer com menor dor, tempo de internamento, tempo de convalescença e taxa de morbilidade.⁸⁴

Ano	Autor	Contributo
Antes de 1935	-	RGE não identificado como causa de esofagite
1951	Allison	Propôs o termo <i>esofagite de refluxo</i> . Correlação: esofagite - hérnia do hiato Necessidade da JEG em posição intra-abdominal
1956	Nissen	Funduplicatura total transtorácica (360°)
1956	Belsey Mark IV	Funduplicatura parcial transtorácica (240°)
1956	Hill	Gastropexia posterior que ancora a JEG à fáscia pré-aórtica e ao ligamento arqueado médio
1962	Dor	Funduplicatura parcial anterior
1963	Toupet	Funduplicatura parcial posterior
1985	Donahue	Funduplicatura de Nissen lassa (“ <i>floppy</i> ”)
1986	DeMeester	Funduplicatura de Nissen curta (2 cm), após mobilização do fundo gástrico, laqueando os vasos curtos gástricos
1991	Dallemagne	Funduplicatura total laparoscópica

Tabela 10 – História da evolução da cirurgia antirefluxo

Vantagens da cirurgia antirefluxo

Na atualidade, a cirurgia antirefluxo é a única terapêutica que corrige os defeitos anatómicos subjacentes à DRGE. A correção, ao suspender o refluxo gastresofágico, interrompe as interações entre as células esofágicas lesadas e as moléculas do refluyente que lhes induzem alterações suscetíveis de causar progressão da doença para adenocarcinoma. Sem refluxo gastresofágico, cerca de 90% dos doentes ficam assintomáticos durante, pelo menos, dez anos, dispensam a medicação específica, ficam aptos a ingerir qualquer tipo de alimento e, podem repousar em decúbito sem ocorrência de refluxo.

A cirurgia antirefluxo tem sido indicada, de forma crescente, no estágio precoce da DRGE, e como tratamento primário alternativo à terapêutica médica prolongada. Para esta orientação, têm contribuído as inovações técnicas, como a videocirurgia, e a progressiva consciencialização de que o aumento do adenocarcinoma da junção esófago-gástrica e do esófago distal está associado ao refluxo gastresofágico.⁸⁵

Desvantagens da cirurgia antirefluxo

A morbilidade associada com a operação é uma desvantagem. Apesar de a cirurgia laparoscópica abolir a dor característica da laparotomia, parte significativa dos doentes constata alguma disfagia no pós-operatório imediato que, embora transitória na maioria dos casos, pode persistir alguns meses.

Grande parte dos doentes manifesta saciedade precoce – certamente, relacionável com a redução da câmara-de-ar gástrica causada pela funduplicatura – que conduz a alguma perda ponderal pós-operatória, passageira, que regride ao fim de algumas semanas.

A funduplicatura forma uma válvula de sentido único que permite o trânsito para o estômago mas, impede o refluxo. Por tal facto, os doentes devem ser avisados da dificuldade, potencial, em eructar e aconselhados a evitar as bebidas gaseificadas. A dificuldade de eructação condiciona flatulência e meteorismo. Pela mesma razão, os doentes devem ser avisados da dificuldade em vomitar.

A cirurgia antirefluxo pode não ser, totalmente, eficaz em impedir o refluxo. Tal, depende, por um lado, da experiência do cirurgião e, por outro, da necessidade de precaver a disfagia o que, dificulta a criação de um procedimento cirúrgico que elimine, completamente, o refluxo. Na maioria dos doentes, as vantagens da cirurgia antirefluxo superam as suas desvantagens.

Indicações cirúrgicas

A terapêutica cirúrgica deve ser ponderada após confirmação do diagnóstico de DRGE: nos doentes com insucesso do tratamento médico – controlo inadequado dos sintomas, regurgitação grave não controlada pela supressão ácida, efeito medicamentoso secundário –, nos doentes que optem pela cirurgia, apesar da terapêutica médica eficaz – qualidade de vida, perspectiva de medicação de longa duração –, nas complicações da DRGE – esófago de Barrett, estenose péptica –, nas manifestações extra-esofágicas – asma, rouquidão, tosse, dor torácica, aspiração –.

Existem fatores pré-operatórios preditivos de fraca resposta à terapêutica antissecretora que devem considerar-se como referência para tratamento cirúrgico precoce. Entre eles contam-se: a contractilidade reduzida do corpo esofágico, o EEI, marcadamente, hipotônico, a esofagite erosiva grave não responsiva ao tratamento médico (TM), e o esôfago de Barrett. A Tabela 11 resume as indicações para cirurgia antirefluxo.⁸⁶

Refluxo não complicado	Refluxo complicado
Falência do TM em controlar sintomas (pirose)	Esofagite por EEI incompetente
Recidiva das queixas após suspensão do TM	Esofagite persistente apesar da resposta sintomática
EEI incompetente (<i>predispõe a falência do TM</i>)	Estenose (<i>falência do tratamento médico</i>)
Jovens com DRGE severa	Hemorragia ou anemia / esofagite persistente
Intolerância e efeitos colaterais à medicação	Metaplasia de Barrett (<i>defeito grave do EEI</i>)
Preferência do doente	Pneumonia de aspiração

Tabela 11 – Indicações para cirurgia antirefluxo

A coexistência de esôfago de Barrett, com sintomas de refluxo gastresofágico, constitui indicação, clara, para cirurgia antirefluxo.⁸⁷ A cirurgia no esôfago de Barrett, assintomático, é mais controversa. Apesar de as alterações metaplásicas do esôfago de Barrett regredirem no pós-operatório, comparativamente, aos doentes tratados com inibidores da bomba de prótons (IBP), não está demonstrada a redução da incidência de adenocarcinoma esofágico.⁸⁸

São fatores de sucesso cirúrgico: a seleção do doente, ou seja, certificar a DRGE como causa dos sintomas; a avaliação pré-operatória, comprovando EEI incompetente e a adequada contractilidade esofágica; e, a seleção e execução metódica da operação. Idealmente, a cirurgia antirefluxo preserva ou restabelece a deglutição normal, impede o refluxo e mantém as funções fisiológicas de eructação, de vômito e de esvaziamento gástrico.

Avaliação pré-operatória

Apesar de a investigação pré-operatória, com exames auxiliares, permitir a seleção de doentes para tratamento operatório não existe consenso, relativamente, aos meios complementares a utilizar, nem à sequência da sua realização.

A endoscopia digestiva alta é o único exame complementar que todos os doentes devem realizar no pré-operatório. Visa confirmar a DRGE, diagnosticar outras eventuais anomalias da mucosa e realizar biópsias. Apesar de apenas 40 a 60% dos doentes com DRGE terem evidência endoscópica de esofagite, a esofagoscopia tem excelente especificidade diagnóstica, quando existem erosões, e possibilita identificar esôfago de Barrett, cancro, hérnia do hiato, esofagite eosinófila e divertículo de Zenker.

Durante a endoscopia deve registar-se a compressão diafragmática crural, a junção esofagogástrica anatômica e a transição pavimentoso-cilíndrica.

Objetivos da cirurgia

O tratamento cirúrgico tem por objetivo restabelecer a barreira antirefluxo, mediante a criação de uma válvula gastresofágica (fundoplicatura), para desempenhar uma ação mecânica de continência. A eficácia da barreira antirefluxo baseia-se na presença de um segmento esofágico intra-abdominal e no comportamento do músculo do fundo gástrico usado para contornar o esôfago.

Técnicas cirúrgicas antirefluxo

As técnicas cirúrgicas antirefluxo classificam-se em mecânicas e anatômicas, consoante o tipo de reparação. As fundoplicaturas são técnicas de reparação mecânica. A esofagogastropexia de Hill é uma técnica de reparação anatômica na qual a junção esofagogástrica é reposicionada na cavidade abdominal fixando o cárdia ao ligamento arqueado médio pré-aórtico. A operação de Hill é pouco utilizada e requer manometria intraoperatória.

Na fundoplicatura o fundo gástrico é enrolado em torno do esôfago distal. Em oposição ao estômago restante, o fundo gástrico exhibe o fenômeno fisiológico de relaxamento recetor, que se traduz no afrouxar da tensão do músculo liso fúndico em associação com o relaxamento do EEI induzido pela deglutição. Se a fundoplicatura for realizada em torno do estômago (“corpolicatura”), em vez do esôfago distal, as contrações periódicas do músculo liso gástrico dentro da plicatura podem causar disfagia. A fundoplicatura deve situar-se dentro do abdômen, sem tensão, e os pilares do diafragma devem ser, adequadamente, encerrados para impedir a migração torácica do estômago ou da própria fundoplicatura. Se ocorrer migração, estabelecer-se-á uma hérnia do hiato paraesofágica. Consoante o grau de enrolamento, a fundoplicatura classifica-se em total (Nissen) e parcial (Belsey Mark IV, Toupet, Dor).

As técnicas de fundoplicatura oscilam entre a resistência ao fluxo e a durabilidade da reparação. Em geral, as fundoplicaturas completas criam mais resistência, quer prógrada (maior potencial de incidência de disfagia), quer retrógrada (menor risco de refluxo pós-operatório), e têm maior duração a longo prazo do que as fundoplicaturas parciais. Em contraste, as fundoplicaturas parciais têm menor resistência ao fluxo, prógrado ou retrógrado, e, embora, associadas com menor incidência de disfagia, apresentam maior risco de recorrência de refluxo e de deiscência da plicatura.

O mecanismo de ação por meio do qual a cirurgia antirefluxo exerce os seus efeitos permanece, incompletamente, compreendido e cada operação funciona de modo, ligeiramente, diferente. Contudo, podem mencionar-se generalizações. O tónus muscular do EEI é restabelecido, ou melhorado, devido ao tónus do músculo liso gástrico e ao aumento da eficácia do esfíncter anatômico nativo.⁸⁹ Assim, no pós-operatório, o EEI reage, apropriadamente, com aumento de pressão em sintonia com o aumento da pressão intragástrica, provavelmente, em resultado da transmissão do aumento da pressão gástrica, dentro da plicatura, ao esôfago distal.⁹⁰

A reparação do comprimento do EEI promove a capacidade antirefluxo da funduplicatura porque, quanto maior for o comprimento do EEI, menor é a pressão EEI necessária para manter a competência.

O restabelecimento do ângulo de His e a reentrada oblíqua do esôfago no estômago explicam alguma da eficácia das operações antirefluxo. O efeito mecânico da funduplicatura, também, reduz o calibre do esôfago distal e do orifício do esôfago que dá acesso no estômago. A redução do raio tubular condiciona que, para iniciar um episódio de refluxo (lei de *Laplace*), seja necessária maior pressão para abrir o cárdia.

Escolha da operação

A funduplicatura transabdominal, em regra, a operação de Nissen, por laparoscopia, é a intervenção mais adequada na maioria dos doentes típicos. Alguns, porém, poderão necessitar de abordagem alternativa. Os portadores de esôfago curto precisarão de alongamento esofágico – gastroplastia de *Collis* – por laparoscopia, ou por via transtorácica. Os doentes com cirurgia subdiafragmática prévia ou com abdômen, previsivelmente, hostil por múltiplas operações anteriores, poderão beneficiar de abordagem transtorácica. Os, previamente, sujeitos a gastrectomia parcial, por não terem fundo com dimensão para a construção de funduplicatura, poderão requerer uma técnica alternativa como a esofagogastropexia de Hill.

Operações transtorácicas

A funduplicatura de Belsey Mark IV tem sido a principal operação transtorácica usada para tratar a DRGE. Nela, o esôfago distal é mobilizado e o estômago proximal tracionado através do diafragma. Consiste na construção de uma funduplicatura anterior, de 270°, reforçada, em contraforte, pela aproximação dos pilares do diafragma. A via tradicional para a operação de Belsey Mark IV tem sido a toracotomia esquerda mas, também, pode ser realizada por toracosopia.⁹¹

Operações transabdominais

Na funduplicatura total o fundo gástrico é enrolado, circunferencialmente (360°), em torno do esôfago distal. Na descrição original de Nissen, a seguir à mobilização do esôfago abdominal e da pequena curvatura gástrica, a parede posterior fúndica era enrolada à volta do esôfago distal, para se juntar à parede anterior do fundo, numa extensão que variava entre três e seis centímetros, sem laqueação dos vasos curtos gástricos. Dois discípulos seus modificaram a técnica e, também, sem divisão dos vasos curtos gástricos, enrolavam a porção anterior do fundo à volta do esôfago, com menor mobilização do estômago proximal. Esta modificação da funduplicatura de Nissen é designada Hell-Rossetti ou Rossetti.⁹²

Na atualidade, a funduplicatura de Nissen é total, curta – inferior a três centímetros – e lassa (“*short and floppy*”), podendo realizar-se por cirurgia minimamente invasiva. Por outro lado, os vasos curtos gástricos, proximais, são laqueados numa extensão compatível com a libertação completa do fundo gástrico. O bordo externo do fundo do estômago, passando por trás, é enrolado em torno do esófago distal e suturado ao bordo fúndico interno.

O consenso para padronização da operação de Nissen envolve: a proteção dos nervos vagos, anterior e posterior; a preservação do ramo hepático do nervo vago anterior; a abertura do ligamento frenesofágico, da esquerda para a direita; a disseção dos dois pilares do diafragma; a disseção transhiatal, na extensão de 3 cm, para permitir a mobilização do esófago abdominal; a mobilização do fundo gástrico; a divisão proximal dos vasos curtos gástricos, desde o polo inferior do baço, para criação da funduplicatura, sem tensão; a aproximação dos pilares do diafragma, com suturas não absorvíveis; a inclusão do nervo vago posterior na funduplicatura; a confecção da funduplicatura total, com 1,5 a 2 cm de comprimento, devendo a sutura mais proximal incorporar a parede muscular anterior do esófago.⁹³

Existem funduplicaturas cuja prega fúndica, em torno do esófago, é inferior a 360°. Estas, funduplicaturas parciais, têm sido usadas para evitar algumas sequelas da funduplicatura de Nissen que, se ficar hipercontínente, pode ocasionar disfagia, impossibilidade de eructar e distensão gástrica aguda, ou síndrome “*gas-bloat*”. As funduplicaturas parciais visam a prevenção eficaz do refluxo, com a resistência mínima ao trânsito esofágico. A durabilidade a longo prazo de tais reparações é inferior à da funduplicatura de Nissen.

Operação	Tipo de funduplicatura	Dimensão
Dor	Anterior	150° - 200°
Thal	Anterior	90°
Watson	Anterolateral	120°
Toupet	Posterior	270°
Belsey Mark IV	Anterior (transtorácica)	270°
Esofagogastropexia de Hill	Plicatura da pequena curvatura	90°

Tabela 12 – Variantes de funduplicatura parcial

As indicações, relativas, para funduplicatura parcial incluem motilidade esofágica diminuída (primária ou secundária), aerofagia severa, associação com cardiomiectomia de Heller, fundo gástrico insuficiente para permitir funduplicatura total (estômago tubular após gastrectomia).

As variantes de funduplicatura parcial incluem as técnicas anteriores, as posteriores e a esofagogastropexia de Hill, Tabela 12. A funduplicatura de Dor é usada no tratamento da acalásia, em associação com a cardiomiectomia de Heller. A funduplicatura de Watson compreende a fixação intra-abdominal do esófago com plicatura do fundo ao longo do bordo anterolateral do esófago. A reparação de Hill envolve a plicatura da pequena curvatura gástrica no lado direito do esófago, com esofagogastropexia ao ligamento arqueado médio, sob monitorização por manometria peroperatória.

A fundoplicatura de Toupet está entre as fundoplicaturas parciais mais, frequentemente, usadas desde a introdução da laparoscopia. Nesta operação, o fundo fica em posição posterior ao esôfago.

A terescardiopexia de Narbona e a prótese de Angelchick são, também, procedimentos mecânicos. A terescardiopexia visa recuperar a função valvular, acentuando o ângulo de His e mantendo o EEI em posição intra-abdominal. A prótese de Angelchick é um anel de silicone colocado em redor do esôfago distal, dentro da cavidade abdominal.

Tratamento da DRGE por videocirurgia

A cirurgia laparoscópica reduz, significativamente, o traumatismo da parede abdominal, a dor pós-operatória, o tempo de internamento hospitalar, e o absentismo; adicionalmente, apresenta baixa morbilidade, custo acessível, e os bons resultados são opção atrativa face ao tratamento médico prolongado.

Os princípios técnicos, comuns a todas as fundoplicaturas, abrangem: disseção sem lesar a parede esofágica (esôfago não manipulado, diretamente, com pinça, nem com a extremidade de instrumentos pontiagudos), plicatura do fundo em torno do esôfago distal, criação de fundoplicatura sem tensão, quer axial (tendente a tracionar o hiato para o mediastino) quer rotacional.

Divisão do ligamento gastrohepático Divisão da membrana frenesofágica e do ligamento gastrofrénico Mobilização do esôfago distal, do mediastino e dos pilares Identificação e preservação dos nervos vagos, anterior e posterior Mobilização completa do fundo gástrico Encerramento dos pilares Fundoplicatura total, curta, lassa e livre de tensão

Tabela 13 – Etapas da fundoplicatura de Nissen por laparoscopia

São contraindicações à cirurgia antirefluxo laparoscópica: íleus mecânico e paralítico, anomalia grave da condução cardíaca, infarto do miocárdio nos 6 meses prévios, insuficiência cardíaca, isquémia do miocárdio, insuficiência respiratória, coagulopatia não corrigível e intolerância a anestesia geral.

Cirurgia abdominal prévia (especialmente subdiafragmática) Esofagite grave +/- estenose Esôfago curto Esplenomegália Vagotomia prévia Gastrectomia prévia
--

Tabela 14 – Contraindicações relativas para cirurgia antirefluxo laparoscópica

Outras condições tornam a cirurgia laparoscópica mais difícil, devendo ser consideradas contra-indicações relativas. Estes fatores incluem a cirurgia abdominal superior prévia e, particularmente, operações em torno do hiato esofágico, Tabela 14.

A funduplicatura de Nissen laparoscópica controla os sintomas de refluxo em 91% a 100% dos doentes.

Cirurgia antirefluxo por laparoscopia versus laparotomia

Em meta-análises recentes, a morbidade na funduplicatura laparoscópica foi, significativamente, inferior (65%) à laparotômica. A taxa de conversão em laparotomia variou entre 0 e 9,6%, apresentando valores inferiores a 5% em ensaios controlados recentes. A cirurgia laparoscópica foi mais demorada, cerca de 40 minutos, mas, foi sucedida de menor tempo de internamento (2,68 dias) e de mais rápido regresso à atividade normal (7,75 dias), relativamente, à cirurgia por laparotomia.⁹⁴

Em catamneses com recuos entre três meses e dois anos foram obtidos resultados pós-operatórios equivalentes com os dois procedimentos, relativamente, a recorrência de refluxo, disfagia, bloqueio da eructação e taxa de reintervenção. Meta-análises posteriores mostraram maior índice de reoperação no grupo tratado por laparoscopia, mau grado haver equiparação de falência do tratamento entre as duas técnicas. Um ensaio randomizado, controlado, mostrou taxas de reoperação superiores após funduplicatura de Nissen laparoscópica, em relação à congénere laparotômica.⁹⁵

A avaliação do sistema imunológico após funduplicatura laparoscópica, mostrou redução dos leucócitos, redução dos níveis séricos de proteína C reativa e ausência de diferenças significativas nos níveis séricos do cortisol, de acordo com a sua natureza de procedimento minimamente invasivo.⁹⁶

Técnica cirúrgica e curva de aprendizagem

A padronização da funduplicatura total proporcionou excelentes resultados pós-operatórios incluindo taxa de conversão de 2%, taxa de complicação pós-operatória de 3% e internamento pós-cirúrgico médio de dois dias.⁹⁷

A curva de aprendizagem da cirurgia antirefluxo laparoscópica tem influência nas taxas de falência, complicações, reintervenção, tempo operatório, tempo de internamento e de conversão. Durante a curva de aprendizagem é recomendável a realização, com supervisão experiente, dos primeiros quinze a vinte procedimentos antirefluxo por laparoscopia.⁹⁸ A cirurgia antirefluxo de reintervenção deve ser, apenas, realizada em centros de referência, por cirurgiões com grande prática em cirurgia antirefluxo.⁹⁹

Comparação dos resultados de diferentes tipos de funduplicatura

Funduplicatura parcial anterior versus total

Quatro ensaios randomizados, controlados, comparando a funduplicatura anterior laparoscópica com a funduplicatura de Nissen laparoscópica, analisaram 457 doentes, com catamnese entre seis meses e dez anos. Dois incluíram a funduplicatura anterior de

180 graus e os outros dois a fundoplicatura anterior de 90 graus. A fundoplicatura anterior apresentou menor incidência de disfagia pós-operatória em comparação com a fundoplicatura de Nissen¹⁰⁰ mas, mostrou-se menos eficaz no controlo do refluxo gastroesofágico, por sintomas e exames auxiliares, pelo que vários doentes tiveram necessidade de ser reoperados.¹⁰¹ Não foram efetuados estudos comparativos específicos entre fundoplicaturas de 90 e 180 graus. A fundoplicatura de 90° é inadequada.¹⁰²

Fundoplicatura parcial posterior versus total

Nove ensaios randomizados, controlados (integrando técnicas por laparotomia e por laparoscopia), com catamnese entre um e cinco anos, compararam a fundoplicatura de Toupet com a fundoplicatura de Nissen. Ficou demonstrada menor taxa de disfagia após fundoplicatura de Toupet e semelhança no controlo da pirose entre os dois procedimentos. Um ensaio recente, comparando a dimensão da fundoplicatura (1,5 versus 3 cm) nos dois procedimentos, demonstrou que a fundoplicatura de Toupet, com 3 cm de dimensão, obteve melhor controlo do refluxo do que a de Toupet, com 1,5 cm. O comprimento da fundoplicatura de Nissen não influenciou o controlo do refluxo, mas constatou-se maior incidência de disfagia com a braçadeira de 3 cm, relativamente, à de 1,5 cm, na catamnese com recuo de um ano.¹⁰³ São necessários maiores períodos de catamnese para comparar a eficácia, a longo prazo, entre as duas fundoplicaturas dado que a atual certeza corresponde a cinco anos. Alguns ensaios sugerem menor controlo do refluxo, a longo termo, com a fundoplicatura de Toupet.^{104,105}

Fundoplicatura parcial anterior versus parcial posterior

As duas fundoplicaturas parciais, anterior de 120 graus e posterior de 180 graus, foram comparadas em ensaio randomizado, controlado, que seguiu 95 doentes, durante cinco anos, e concluiu que a posterior foi superior à anterior, conseguindo o controlo do refluxo, sem aumento da incidência de disfagia pós-operatória. Em catamnese, de longo termo, após fundoplicatura anterior, verificou-se maior incidência de retoma de medicação com IBP, de reexposição esofágica à acidez, de taxa de reoperação e de fraca satisfação dos doentes. Assim, a fundoplicatura anterior, por não controlar o refluxo, não é recomendável para o tratamento cirúrgico da DRGE.

Aspetos técnicos suscetíveis de influenciar os resultados

Laqueação dos vasos curtos

Cinco ensaios randomizados, controlados, analisando o impacto da laqueação dos vasos curtos nos resultados da cirurgia antirefluxo laparoscópica, concluíram pela respetiva falta de influência nos resultados fisiológicos, semiológicos e de qualidade de vida, dez anos após a cirurgia. A laqueação dos vasos curtos na operação de Nissen está indicada sempre que não for possível realizar a fundoplicatura sem tensão. A laqueação dos

vasos curtos, de rotina, para minimizar a tensão da funduplicatura, é consensual entre peritos norte-americanos.¹⁰⁶

Aproximação dos pilares do diafragma (cruoplastia)

Não existem ensaios randomizados, controlados, comparativos sobre a aproximação, ou não, dos pilares do diafragma. Os benefícios da aproximação dos pilares do diafragma são controversos.^{107,108,109} Diversos autores recomendam a aproximação seletiva, consoante a dimensão da abertura hiatal, mas não há comparações clínicas.^{110,111} Um ensaio recomendou a laqueação e divisão dos vasos curtos, a aproximação dos pilares do diafragma e a fixação da braçadeira ao pilar direito, após concluir haver redução significativa, quer de migração da funduplicatura, quer da necessidade de reintervenção corretora.

O uso de prótese, para reforço da aproximação dos pilares, reduz, significativamente, a migração torácica da funduplicatura.¹¹² O tipo de cruoplastia – com aproximação dos pilares sem tensão por sutura, apenas, ou com reforço protésico – deve ser adequado ao tamanho do orifício hiatal.

Calibração esofágica

A calibração da funduplicatura, durante a sua confecção, pretende reduzir a incidência de disfagia a longo prazo.¹¹³ Um ensaio randomizado, controlado, com catamnese de onze meses, constatou decréscimo, significativo, da disfagia pós-operatória nos doentes cuja funduplicatura foi confeccionada sobre calibrador “*French 56*”, comparativamente, a outros em que não houve calibração. Porém, a utilização do calibrador foi sucedida de 1,2% de incidência de lesão do esófago.

Cirurgia robótica

A cirurgia robótica antirefluxo tem sido realizada com segurança. Em catamnese com recuo de um ano está conotada com resultados equivalentes aos da cirurgia antirefluxo laparoscópica. O seu custo elevado, comparativamente, à cirurgia laparoscópica convencional e a equivalência dos resultados, a curto prazo, faz com que, de momento, não constitua a primeira opção.

Previsão de sucesso cirúrgico

Idade

A idade não interferiu nos resultados da cirurgia antirefluxo. Apesar de os doentes, com mais de 65 anos, tenderem para maior tempo de internamento pós-operatório, apresentaram resultados excelentes em cerca de 90% dos casos, que é uma percentagem semelhante à dos grupos etários mais novos.¹¹⁴

Tensão diafragmática pós-operatória

No pós-operatório precoce, os aumentos súbitos da pressão intra-abdominal, o impacto alimentar, a aerofagia, a eructação e os vômitos predisõem à falência anatômica da funduplicatura e conseqüente necessidade de reoperação. As hérnias do hiato, superiores a três centímetros na operação original, são fator de risco adicional de falência anatômica.

Sintomas atípicos

Os doentes com sintomas atípicos de DRGE como – dor torácica, asma, tosse crônica, rouquidão, otite média, perda atípica do esmalte dentário, fibrose pulmonar idiopática, pneumonia recorrente e bronquite crônica – apresentaram pior resposta à funduplicatura, em comparação com os doentes com sintomas típicos – pirose e regurgitação.¹¹⁵

Função esofágica

A pressão normal do EEI não se encontrou associada com aumento da taxa de disfagia pós-operatória.¹¹⁶

Padrão de refluxo

Os doentes com refluxo em pé, predominante, apresentaram tendência para comportamento desviante associado como aerofagia, regurgitação e dispepsia, quando comparados com doentes portadores de refluxo típico em decúbito. A funduplicatura de Nissen laparoscópica foi, igualmente, eficaz, independentemente, do padrão de refluxo.¹¹⁷

Resposta pré-operatória ao tratamento médico

Os doentes sem resposta pré-operatória aos IBP tiveram menor taxa de satisfação após funduplicatura, assemelhando-se com os doentes que apresentavam resposta parcial. A não resposta aos IBP não é contraindicação à cirurgia de refluxo, havendo estudos que mostraram muito boa taxa de sucesso nestes casos.¹¹⁸

Esófago de Barrett e cirurgia antirefluxo

O esófago de Barrett consiste num segmento de esófago, de qualquer dimensão, visível por endoscopia, cuja biópsia mostre alteração histopatológica de metaplasia intestinal em que o epitélio estratificado pavimentoso do esófago foi substituído por epitélio cilíndrico contendo células caliciformes (“*goblet cells*”). Entende-se que este processo metaplásico começa por inflamação e lesão, induzidas pelo refluxo crónico de ácido e biliar.¹¹⁹ Nos EUA o esófago de Barrett define-se como o desfasamento proximal da transição pavimentoso-cilíndrica, relativamente, à junção esofagogástrica com evidência histopatológica de metaplasia intestinal especializada nos espécimes de biópsia.

O esófago de Barrett é sempre indicador de, e representa, um estágio final de DRGE. Os fatores associados com esófago de Barrett incluem refluxo biliar anormal, hérnia hiatal superior a quatro centímetros, EEI incompetente por defeito estrutural grave e disfunção motora esofágica. É frequente a destrinça entre esófago de Barrett de segmento curto, inferior a três centímetros, e esófago de Barrett de segmento longo, igual ou superior a três centímetros. Ambos se consideram patológicos e pré-malignos.

O esófago de Barrett incide em 1,65% da população geral e em 8,6% dos doentes com DRGE sintomática¹²⁰ e apresenta risco, trinta a cem vezes superior, de desenvolvimento de adenocarcinoma do esófago.¹²¹ O risco de cancro aumenta quando surge neoplasia intraepitelial.¹²² Com significado e história natural desconhecidos, pode ocorrer presença de metaplasia intestinal numa junção esofagogástrica, endoscopicamente, normal; tal, é designada metaplasia intestinal do cárdia. Apesar de a patogénese ser similar à do esófago de Barrett, a metaplasia intestinal do cárdia é considerada entidade separada do esófago de Barrett.¹²³

Fisiopatologia da metaplasia de Barrett

A patogénese do esófago de Barrett inicia-se pela lesão do epitélio estratificado pavimentoso esofágico, secundária a repetida distensão gástrica por refeições gordas e copiosas, que conduzem ao apagamento do EEI, e à exposição do esófago distal ao conteúdo cáustico do estômago. A persistência de lesão inflamatória neste setor do esófago distal pode induzir lesão muscular permanente do EEI que, se torna, mecanicamente, incontinente. Com a destruição da barreira antirefluxo gastresofágica aumenta a exposição do esófago e surge lesão da mucosa espinocelular. À endoscopia a lesão apresenta-se, então, como esofagite erosiva. A metaplasia cilíndrica subsequente, surgida no epitélio estratificado pavimentoso do esófago, é uma camada de células cilíndricas secretoras de muco, denominada *mucosa cárdica*, que sendo uma mucosa, altamente, específica se destina a substituir o epitélio estratificado e se acredita representar uma resposta adaptativa para melhor tolerância à exposição ao reflúente gástrico. Esta *mucosa cárdica* pode persistir, sem alterações, formando células parietais ou, numa via de diferenciação divergente, desenvolver células caliciformes e tornar-se em mucosa cárdica intestinal.

No desenvolvimento do esófago de Barrett o epitélio estratificado pavimentoso transforma-se em epitélio cilíndrico com metaplasia intestinal, em duas fases. Na primeira fase torna-se epitélio cárdico e na segunda sofre modificação intestinal (“*intestinalization*”). A presença e a extensão da mucosa cárdica cilíndrica têm sido

relacionadas com a gravidade da doença de refluxo e, em especial, com o refluxo ácido. A fase inicial poderá resultar quer de transdiferenciação, na qual as células espinocelulares se convertem, fenotipicamente, em células cilíndricas, quer da transformação das células estaminais que passam a produzir descendência cilíndrica em vez de espinocelular.

A modificação intestinal da mucosa cárdica cilíndrica, na segunda fase, está relacionada com a natureza do refluxo gastresofágico, no qual a bílis é o componente crítico. No refluyente gastresofágico foram identificados vários ácidos biliares – glicocólico, taurocólico, glicodeoxicólico e glicoquenodeoxicólico – que, lesando o epitélio esofágico, poderão induzir alterações mitocondriais, *stress* oxidativo ou lesão do ADN, que levam ao desenvolvimento de metaplasia. Há maior expressão de transportadores de ácidos biliares na ARNm e nas proteínas da mucosa de Barrett, sendo incerta a sua real implicação carcinogénea.¹²⁴

A ocorrência de metaplasia intestinal relaciona-se com a extensão do revestimento cilíndrico no esófago distal. A presença de metaplasia intestinal aproxima-se de 100% quando a extensão da mucosa cilíndrica atinge três centímetros. A metaplasia intestinal não tem localização fortuita; situa-se, sempre, no setor proximal da mucosa cilíndrica, adjacente à junção pavimentoso-cilíndrica. A densidade de células caliciformes, o cunho da metaplasia intestinal, também é, proximalmente, mais elevada. As biópsias para confirmação da presença de metaplasia intestinal num segmento de mucosa cilíndrica devem, assim, ser proximais, perto da junção pavimentoso-cilíndrica, e não distais.

No esófago há um gradiente de exposição ao refluxo gastresofágico, sendo no setor distal que ocorre o menor valor de pH e a maior duração de exposição. Na mucosa cilíndrica o valor do pH e a natureza do refluyente desempenham função crítica na distribuição da metaplasia intestinal, provavelmente, através da modulação das células estaminais, ora, diretamente, ora, alterando a expressão de genes específicos (*master switch genes*) que regulam a atividade das células estaminais. A embriogénese das células estaminais é regulada pelos *master switch genes* – que incluem: *Wnt*, *BMP-4*, *hedgehog* e *cdx-2* – os quais, continuam a desempenhar ação vital na vida adulta, orientando a diferenciação, mantendo recantos de células estaminais e coordenando a resposta celular à agressão, especialmente, na mucosa gastrointestinal. A expressão do *Wnt* participa no desenvolvimento da mucosa espinocelular normal; as proteínas *hedgehog* são essenciais para a diferenciação das glândulas fúndicas e para a manutenção do epitélio gástrico normal; as proteínas *cdx1* e *cdx2* desempenham função major no desenvolvimento e manutenção da mucosa intestinal normal. A expressão de *cdx2* tem sido associada a metaplasia intestinal no esófago. Existe, por sua vez, um gradiente de expressão de *cdx2* que, é mais elevado no setor proximal de um segmento longo de esófago de Barrett onde é menor a exposição ao ácido. A interação entre as expressões *hedgehog* e *cdx2* estará subjacente ao fenótipo do segmento cilíndrico, cuja mucosa cárdica tem localização distal, perto da junção esofagogástrica, onde há maior exposição ácida e aumentada expressão *hedgehog*. Em contraste, a metaplasia intestinal tem localização proximal, perto da junção pavimentoso-cilíndrica onde a exposição ao ácido é menor e existe elevada expressão de *cdx2*. A expressão genética varia entre as áreas proximal e distal de um segmento longo de esófago de Barrett havendo expressão genética inflamatória mais elevada perto da junção pavimentoso-cilíndrica. É possível que a interação entre os *master switch genes* e a expressão de outros genes, incluindo COX-2, interleucinas 1 e 8, VEGF e ciclina D1, regule o desenvolvimento e a

progressão de Barrett, displasia e adenocarcinoma. A importância desta interação ficou demonstrada pela evidência que sugere que o cancro nem sempre ocorre na zona de maior expressão genética inflamatória ou de maior densidade de células caliciformes.¹²⁵

Endoscopia pré-operatória

A esofagite erosiva e o esófago de Barrett têm critérios diagnósticos objetivos, independentes da DRGE. O diagnóstico de esófago de Barrett, dependendo do grau histopatológico, pode alterar a indicação operatória e a calendarização da cirurgia antirefluxo. Quando o esófago revestido com epitélio cilíndrico é diagnosticado por endoscopia, pela primeira vez, devem ser obtidas biópsias dos quatro quadrantes, de cada 1 a 2 cm de porção esofágica afetada, para confirmar a presença de esófago de Barrett e determinar o seu grau histopatológico. Perante a existência de áreas de nodularidade, ou ulceradas, dever-se-á proceder a mucosectomia endoscópica para excluir neoplasia avançada.

A necessidade de padronizar a nomenclatura do esófago de Barrett levou ao desenvolvimento de um sistema conhecido como classificação de Praga. Nesta classificação são medidos durante a endoscopia, quer o comprimento máximo das linguetas de esófago de Barrett, quer a extensão circunferencial do segmento esofágico de Barrett. Estas determinações são usadas para monitorizar o segmento de esófago de Barrett, com a passagem do tempo.

Avaliação histopatológica do esófago de Barrett

Os factos histopatológicos do esófago de Barrett são classificados conforme a presença ou a ausência de neoplasia: 1) sem displasia ou metaplasia intestinal não neoplásica; 2) indefinido para displasia; 3) displasia de baixo grau; 4) displasia de alto grau. Na circunstância de os espécimes de biópsia endoscópica não atingirem profundidade suficiente na parede esofágica, se houver suspeita de neoplasia invasiva, há indicação para ecoendoscopia para excluir envolvimento da submucosa por cancro. Devido à variabilidade entre observadores, o diagnóstico de atipia em esófago de Barrett e o grau da neoplasia devem ser confirmados por dois patologistas experientes.¹²⁶

Displasia no esófago de Barrett

A displasia é uma transformação neoplásica inequívoca do epitélio e caracteriza-se por anomalias arquiteturais e citológicas. Os critérios arquiteturais são a irregularidade glandular, a morfologia vilosa excessiva e o padrão de crescimento exagerado ou cribiforme de epitélio especializado. Os critérios nucleares são a variabilidade da forma e dimensão do núcleo e do citoplasma, o aumento da densidade nuclear (hipercromatismo), a presença de grandes nucléolos, o aumento do número de mitoses, em regra associado a multidão de células, perda da polaridade nuclear, desdiferenciação celular (perda da produção de mucina) e estratificação dos núcleos dentro do citoplasma da célula. As anomalias epiteliais na displasia Barrett formam um espectro contínuo de alterações desde discretas a, relativamente, extremas que os patologistas têm de classificar.

Graduação da displasia

No esófago de Barrett a displasia classifica-se em de baixo-grau e de alto-grau de acordo com o mesmo sistema usado para a displasia na doença inflamatória intestinal. Na displasia de baixo-grau a arquitetura da cripta tende a estar preservada, a distorção, se presente, é discreta, a estratificação nuclear está confinada à parte inferior das células, sem atingir a superfície luminal, a produção de mucina está, marcadamente, diminuída e as anomalias celulares estendem-se para a superfície da mucosa. Na displasia de alto-grau existem alterações arquiteturais acentuadas, superfície mucosa com morfologia viliforme, formação de pontes celulares intraluminais conduzindo ao padrão glandular “*back-to-back*”, estratificação nuclear através de toda a espessura do epitélio e ausência de muco.

No adenocarcinoma invasivo “*early*” há presença de grupos de células de carcinoma ou células isoladas que infiltram, além da membrana basal, para a lâmina própria ou a *muscularis mucosae*. O diagnóstico e a determinação do grau de displasia podem não ser tão simples como a mera aplicação dos critérios acima mencionados. Em particular, é difícil diferenciar entre alterações epiteliais reativas/degenerativas, causadas por inflamação ativa ou úlcera, e displasia ligeira verdadeira. Perante a dúvida acerca do significado das anomalias epiteliais, num espécime de biópsia, é, habitualmente, fornecido o diagnóstico de “displasia indefinida”. Pode ocorrer variação significativa no diagnóstico e na graduação da displasia entre peritos, particularmente, na interface indefinida/baixo-grau.

Prevenção do esófago de Barrett

O conceito de quimioprevenção como via de redução do risco de progressão do esófago de Barrett para displasia e, eventualmente, adenocarcinoma é controverso. A aspirina e os anti-inflamatórios não esteroides têm sido usadas para diminuir o risco de adenocarcinoma do esófago. O tratamento com inibidores COX2 foi, também, relacionado com diminuição do risco de progressão para adenocarcinoma, num modelo animal de esófago de Barrett. No esófago de Barrett, porém, os inibidores COX2 parecem ser desprovidos de eficácia quimioprevenção.

É, igualmente, controversa a quimioprevenção com IBP. A sua prescrição, em altas doses, para impedir a progressão do esófago de Barrett para displasia e cancro é de uso frequente mas, não documentado por evidência. A sua prática baseia-se no facto de que a exposição ao ácido induz proliferação e inibe a apoptose das células metaplásicas do esófago. Dados recentes sugerem que o ácido pode ter efeito antiproliferativo sobre células epiteliais Barrett não neoplásicas e que, a prescrição de IBP em doses elevadas é prejudicial.

Rastreio e seguimento da metaplasia Barrett

Os doentes com DRGE que apresentam maior risco de esófago de Barrett são do género masculino, caucasianos e com idade acima dos cinquenta anos. Apesar disso, o rastreio endoscópico destes doentes não é isento de controvérsia devido: à ausência de critérios baseados em evidência, ser um meio complementar invasivo, ter custo inerente a exame

padrão com sedação, e a constatação crescente de haver subgrupos de doentes com esófago de Barrett sem sintomas de refluxo.

A endoscopia de seguimento ou vigilância deve ter lugar nos doentes esófago de Barrett e nos que apresentam melhoria sintomática relacionada com o tratamento antissecretor e com cirurgia antirefluxo. O protocolo de *Seattle* – que recomenda biópsias nos quatro quadrantes, ao longo de cada centímetro de epitélio metaplásico e, ainda, biópsias extra das áreas suspeitas – tem tido ampla aceitação.

Os doentes com esófago de Barrett, sem displasia, devem realizar vigilância endoscópica, com intervalos de três anos. Os portadores de displasia de baixo grau necessitam realizar seguimento endoscópico, com intervalos de seis meses. Se a vigilância for negativa para displasia de alto grau ou adenocarcinoma, pode ser proposta endoscopia anual até que deixe de haver displasia em dois controlos consecutivos.

A presença de displasia de alto grau deve ser confirmada por dois patologistas experientes, sendo necessária uma segunda endoscopia, no intervalo de três meses, para reduzir a probabilidade de erro de amostra. Os nódulos em área de displasia de alto grau devem ser ressecados, para excluir malignidade. Os doentes com displasia de alto grau devem ser aconselhados a encarar opções de tratamento como: vigilância intensiva, terapêutica de ablação e esofagectomia. Devido a que o risco de desenvolvimento de cancro é de 50%, após três anos do diagnóstico, considera-se a displasia de alto grau no limiar de intervenção terapêutica.

Nos doentes que tenham tido erradicação completa do esófago de Barrett, a vigilância deve continuar, conforme a histopatologia de Barrett da respetiva linha de base, até que surja nova evidência. A cirurgia antirefluxo não modifica as recomendações de vigilância destas orientações. Não há evidência de que a vigilância seja mais difícil ou menos eficaz depois da cirurgia antirefluxo.¹²⁷ A evidência disponível é inconclusiva acerca da resolução ou melhoria do esófago de Barrett após cirurgia antirefluxo.

A identificação de esófago de Barrett com adenocarcinoma, a invadir a submucosa ou as camadas mais profundas, exclui a cirurgia antirefluxo e implica a adoção de cirurgia adequada ao estadiamento neoplásico (esofagectomia, quimioterapia e/ou radioterapia).

Tratamento do esófago de Barrett com displasia

Os objetivos do tratamento dos doentes com esófago de Barrett são semelhantes aos dos doentes com DRGE, incluindo o alívio dos sintomas e a supressão da progressão da lesão epitelial relacionada com o refluxo. Nos doentes com esófago de Barrett, sem displasia, a cirurgia antirefluxo deve ser precedida de ressecção da lesão Barrett.

Um ensaio randomizado (2005), comparando os resultados da terapêutica médica (antagonistas dos recetores H2 e IBP) com os da terapêutica cirúrgica (funduplicatura de Nissen, por laparotomia), concluiu que a cirurgia não deve ser advogada como opção terapêutica nos doentes com esófago de Barrett e que os IBP não eliminam o risco de displasia ou adenocarcinoma.¹²⁸ Outro estudo, prospetivo, não randomizado, comparando IBP com a funduplicatura de Nissen, laparoscópica, em doentes com displasia de baixo grau, concluiu haver significativa regressão do esófago de Barrett no

grupo cirúrgico. Um ensaio recente, prospetivo e randomizado, comparando os resultados do tratamento em doentes com e sem esófago de Barrett, submetidos a cirurgia antirefluxo laparoscópica ou terapêutica com IBP, concluiu que a resposta clínica era semelhante nos dois grupos.

A cirurgia antirefluxo impede a progressão para displasia e adenocarcinoma¹²⁹ porém, são necessários estudos prospetivos, controlados, que documentem esta afirmação. Considerando que o esófago de Barrett se deve a DRGE, a cirurgia antirefluxo deverá ser considerada desde que o esófago de Barrett tenha sido, previamente, tratado com sucesso.

Tratamento da displasia de alto grau

A displasia de Barrett de alto grau, sinónimo de cancro intraepitelial, é o último estágio pré-invasivo da sequência metaplasia-displasia-cancro. As opções terapêuticas incluem vigilância intensiva, excisão da mucosa e esofagectomia.

Vigilância intensiva

Os defensores da vigilância endoscópica consideram-na a estratégia que permite diagnosticar o cancro invasivo, em estágio precoce, e que possibilita diferir o tratamento sem comprometer o prognóstico. A elevada taxa de morbilidade e mortalidade da esofagectomia desencorajam a resseção cirúrgica imediata. Os adversários da vigilância contrapõem que a maioria dos doentes, com displasia de alto grau, terão diagnóstico de adenocarcinoma do esófago após 5 a 10 anos – sendo de 24% aos 1,5 anos, de 50% aos 3 anos e de 80% aos 8 anos –.¹³⁰

A displasia de alto grau é o único marcador fiável do diagnóstico de cancro pré-invasivo. Nos espécimes cirúrgicos dos doentes com displasia de alto grau, que foram submetidos a esofagectomia, incluindo os que tiveram programas de vigilância, foi identificado cancro invasivo em 42%.¹³¹ No entanto, uma meta-análise de diagnósticos histopatológicos após esofagectomia por displasia de alto grau revelou adenocarcinoma invasivo em 12,7%, sendo que a maioria dos casos possuía lesões endoscópicas visíveis, que são fator de risco. Na ausência de lesões visíveis aquele índice foi inferior (6,7%). A displasia de alto grau situa-se no limiar da intervenção. Nos doentes com lesões visíveis, como nódulos e não apenas de Barrett plano, está indicada a ressecção endoscópica para assegurar a ausência de cancro invasivo. A opção for vigilância implica reavaliação endoscópica trimestral. A intensidade necessária para vigilância dos doentes com displasia de alto grau, torna esta opção pouco atrativa.

Tratamento endoscópico

A justificação para a terapêutica endoscópica decorre da baixa incidência de metástases ganglionares na displasia de alto grau ou cancro intramucoso (T1a) e, assim, excisando a mucosa patológica ocorrerá a cura. Nas lesões (T1a) a taxa de metástases ganglionares é de 0-6%. Quando a submucosa está invadida (T1b) tal número ascende a 20%. No esófago de Barrett os métodos de resseção endoscópica da mucosa são usados para excisão local das lesões visíveis. A multifocalidade da displasia e o potencial de transformação maligna são problemas relacionados com o esófago de Barrett. Deste

modo, além da ressecção individual das lesões suspeitas, é desejável a excisão de toda a lesão Barrett.

A acuidade do estadiamento clínico – por tomografia computadorizada torácica, ecoendoscopia, e/ou ressonância magnética esofágica – é fundamental, quando se considera a terapêutica endoscópica, para precaver o seu uso num doente com doença invasiva ou metastática.¹³² As terapêuticas ablativas da mucosa associam os vários métodos de excisão da mucosa metaplásica com o tratamento supressor de ácido, em dose elevada, para que a mucosa espinocelular normal repovoe o local, anteriormente, ocupado pela mucosa metaplásica, num ambiente de pH neutro.

Têm sido, progressivamente, usados métodos endoscópicos, isolados ou em combinação, como ressecção endoscópica da mucosa e da submucosa, eletrocoagulação bipolar, terapêutica fotodinâmica, ablação por radiofrequência, crioterapia. Na ressecção endoscópica circunferencial da mucosa é, em regra, necessário mais do que um procedimento para reduzir a probabilidade de formação de estenose. Com este método os espécimes ficam disponíveis para exame histopatológico. Em 12 % dos doentes tratados há recorrência, ou cancro “*early*”, metácrono, situação que é previsível, por a ressecção endoscópica ser fragmentada e não em bloco.

A terapêutica fotodinâmica reduz o risco de cancro no esófago de Barrett. Os problemas relacionados com a sua aplicação decorrem da necessidade de sessões repetidas, fotossensibilidade, formação de estenose, vigilância continuada – pela possibilidade de ocorrer mucosa metaplásica residual sob o epitélio estratificado pavimentoso regenerado –. A radiofrequência, método de ablação mais recente, é eficaz no tratamento do esófago de Barrett displásico e não displásico. A ablação baseia-se no aquecimento das moléculas de água celular. As suas vantagens são a facilidade de uso e possibilidade de controlar a lesão até à profundidade de 500 – 1000 microm (muscularis mucosae). Um ensaio multicêntrico demonstrou a sua segurança e eficácia num grupo de 127 doentes com esófago de Barrett displásico. Com este método foi possível obter irradicação completa do esófago de Barrett em 90,5% dos casos de displasia de baixo grau e ablação total em 81% dos doentes com displasia de alto grau, sendo de 6% a taxa de complicações, estenose e hemorragia.¹³³

Esofagectomia

A ressecção cirúrgica é o único método que possibilita a erradicação completa da mucosa displásica. A esofagectomia foi indicada como terapêutica cirúrgica padrão na displasia de alto grau atendendo, por um lado, à sua taxa elevada de progressão para cancro e, por outro, à significativa prevalência de cancro oculto nos espécimes de esofagectomia de doentes com diagnóstico pré-operatório de displasia de alto grau.¹³⁴

A esofagectomia, contudo, está associada com elevada morbidade e mortalidade, mesmo em centros de referência. Adicionalmente, é excessiva no tratamento da displasia de alto grau pelo facto de a probabilidade de secundarização ganglionar ser inferior a 5%. Estes factos levaram a que a Sociedade Americana de Gastrenterologia, revendo as linhas de orientação, considerasse que a esofagectomia já não é a solução terapêutica da displasia de alto grau.¹³⁵

Em centros especializados, a cirurgia minimamente invasiva, que inclui toracoscopia, laparoscopia, esofagectomia transhiatal, reduzindo o traumatismo do acesso cirúrgico, tem permitido obter excelentes resultados, a longo termo, e com boa qualidade de vida. A ressecção cirúrgica segmentar do esófago distal e da JEG, com linfadenectomia do mediastino inferior e do compartimento abdominal superior, seguida de restabelecimento da continuidade intestinal, mediante interposição jejunal isoperistáltica (operação de Merendino), é um procedimento alternativo que associa a idoneidade da disseção ganglionar com a profilaxia do refluxo gastroesofágico.¹³⁶

Pelo risco de progressão para cancro invasivo, o tratamento dos doentes com displasia de alto grau ou com cancro intramucoso “*early*” deve ser individualizado. A escolha entre vigilância intensiva, terapêutica ablativa da mucosa e esofagectomia, deve basear-se nos recursos disponíveis e na preferência do doente.

Resumo

- Alterações da expressão genética têm proporcionado explicações para as ocorrências histopatológicas observáveis no esófago de Barrett.
- Os genes envolvidos na progressão do esófago de Barrett para adenocarcinoma podem ser usados como marcadores para avaliar o impacto da cirurgia antirefluxo nestes doentes.
- As técnicas ablativas, incluindo a excisão por radiofrequência, são métodos terapêuticos do esófago de Barrett, progressivamente, aceites, dado o baixo índice de complicações e a elevada taxa de irradicação.
- Apesar de, até hoje, nenhuma terapêutica se ter mostrado eficaz em impedir a progressão do esófago de Barrett, a evidência sugere que deve ser considerada a possibilidade de uma operação antirefluxo poder alterar a história natural do esófago de Barrett.
- A displasia de Barrett de alto grau, sinónimo de cancro intraepitelial, é o último estágio, pré-invasivo, da sequência metaplasia-displasia-cancro. As opções terapêuticas incluem vigilância intensiva, excisão da mucosa e esofagectomia; a decisão deverá basear-se nos recursos existentes e na preferência do doente.

Hérnia do hiato e cirurgia antirefluxo

Ano	Autor	Contributo
1929	Soresi	Tratamento cirúrgico da hérnia do hiato, 1ª publicação
1950	Sweet	Tratamento da hérnia do hiato por via transtorácica
1951	Allison	Estabeleceu a relação entre hérnia do hiato e refluxo gastresofágico e o Tratamento cirúrgico: reposicionamento abdominal do estômago e reparação do hiato diafragmático
1954	Barrett	A importância do restabelecimento do ângulo cardiofrénico na correção dos sintomas de refluxo
1961	Hiebert Belsey	
1966	Hill	
1967	Belsey Skinner	Resultados do tratamento de 1063 doentes com hérnia do hiato; Discriminando, pela primeira vez, entre hérnia de deslizamento e hérnia paraesofágica, realçaram a necessidade de tratamento cirúrgico da hérnia paraesofágica para profilaxia: do estrangulamento, da necrose gástrica e do óbito.

Tabela 15 – História da hérnia do hiato

Categorias de hérnia do hiato

Existem quatro tipos de hérnia do hiato. A de tipo I, de deslizamento, é responsável por 95% das hérnias hiatais. A associação entre alargamento do hiato, estiramento do ligamento frenesofágico e aumento da pressão intra-abdominal permite que a junção esofagogástrica se torne intratorácica conduzindo a disfunção do EEI, que se torna hipotónico. Isto causa perda do ângulo de His e distorce o mecanismo valvular esofágico. A obesidade, a gravidez e a tosse crónica são fatores de risco de hérnia de deslizamento.

Tipo	Hérnia do hiato	Frequência	Fisiopatologia	JEG
I	Deslizamento	95%	Alargamento do hiato esofágico Alongamento do ligamento frenesofágico Aumento da pressão intra-abdominal	Intratorácica
II	Paraesofágica	Rara	JEG em posição intra-abdominal normal Ligamento frenesofágico preservado Hiato alargado	Intra-abdominal
III	Paraesofágica	Frequente	Deslocação proximal da JEG 30% do estômago acima do diafragma	Intratorácica
IV	Paraesofágica	Rara	Hérnia de outros órgãos para a cavidade torácica, juntamente, com o estômago	Intratorácica

Tabela 16 – Classificação das hérnias do hiato

Em sentido lato, os restantes três tipos de hérnia do hiato são paraesofágicas. Comparando com a hérnia tipo I, que não tem saco herniário, todas as hérnias paraesofágicas são, circunferencialmente, cobertas por uma camada de peritoneu que forma um verdadeiro saco herniário.

A hérnia tipo II caracteriza-se pela preservação da JEG em posição anatómica normal, intra-abdominal, por o ligamento frenesofágico se encontrar preservado, pelo hiato esofágico estar alargado, e pelo fundo gástrico migrar para a cavidade torácica. Na

hérnia tipo III há deslocação, proximal, da JEG e presença de, pelo menos, 30% do estômago acima do diafragma.

Na hérnia de tipo IV há migração, intratorácica, de outros órgãos, juntamente, com o estômago. Cólon, intestino delgado, baço, grande epíplon e fígado podem ser conteúdo do saco herniário, anterior ou posterior.

As queixas mais frequentes associadas com hérnias paraesofágicas – dor torácica, obstrução, encarceração, estrangulamento e disfunção pulmonar por aspiração crônica – estão relacionadas com problemas mecânicos, causados pela migração torácica do fundo gástrico, estando a JEG em posição anatômica normal. Cerca de 40% dos doentes com hérnia paraesofágica têm anemia crônica em resultado de estase venosa ou de úlcera de *Cameron*. As hérnias do hiato, incluindo as paraesofágicas, são mais frequentes no género feminino (75%). Metade dos doentes com hérnia paraesofágica tem idade acima de 70 anos, possivelmente, por enfraquecimento e perda de elasticidade. Esta perda do tónus muscular promove a dilatação da zona do hiato. O cárdia desliza para o interior da dilatação podendo, ou não, regressar à sua posição anatômica regular. A maior incidência no sexo feminino liga-se com alterações ocorridas na gravidez.

Hérnia do hiato paraesofágica e esófago curto

Quando o esófago intra-abdominal, livre de tensão, é inferior a 2,5cm denomina-se esófago curto. Existem três tipos de esófago curto. O primeiro, é o esófago curto aparente, relacionado com compressão longitudinal do esófago no mediastino, mas sem modificação do seu comprimento normal. Os dois restantes tipos são esôfagos curtos, verdadeiros, e classificam-se em redutíveis e não redutíveis. É importante a acuidade em diagnosticar um esófago curto, irredutível, como forma de se conseguir a reparação da hérnia paraesofágica, sem tensão, e com o conseqüente baixo risco de recorrência. A incidência de esófago curto em doentes submetidos a cirurgia antirefluxo é de 3 a 10% sendo mais elevada na hérnia paraesofágica.

Terapêutica cirúrgica

A cirurgia da hérnia paraesofágica é reconstrutiva e tem como finalidade restaurar a anatomia normal, reposicionando a JEG e o estômago na cavidade abdominal, e corrigir a DRGE que contribuiu para o problema anatômico. O tratamento da hérnia paraesofágica pode ser realizado por via transtorácica e por via transabdominal (laparotomia ou laparoscopia). A melhor abordagem é controversa, não existindo ensaios prospetivos, randomizados, orientadores. Em muitos centros, a cirurgia laparoscópica é a opção de escolha. Os objetivos da reparação cirúrgica incluem excisão do saco, redução completa da hérnia, reposicionamento do comprimento esofágico sem tensão, cruroplastia (encerramento parcial do hiato alargado) e procedimento antirefluxo.

A herniorrafia paraesofágica laparoscópica é mais complexa do que um procedimento antirefluxo vulgar. Muitos enfermos, com hérnia paraesofágica, têm exposição ácida patológica do esófago distal pelo que está indicada a adição de funduplicatura, como manobra antirefluxo de rotina. Nos casos sem DRGE coexistente a necessidade de adicionar uma funduplicatura é consensual devido à extensa disseção necessária para

excisar o saco herniário e à simultânea mobilização do esófago, que comprometem a barreira antirefluxo. A operação de Nissen é a mais apropriada, desde que a manometria pré-operatória mostre peristálise esofágica normal.

<p>Toracotomia posterior e lateral esquerda, pelo sétimo espaço intercostal. Lise do ligamento pulmonar inferior, até à veia pulmonar inferior. Abertura longitudinal da pleura mediastínica sobre o esófago. Mobilização circunferencial do esófago, entre a carina e o diafragma. Abertura do saco herniário, acima das fibras crurais, mantendo o peritoneu envolvendo os pilares. Disseção do esófago, identificando e protegendo os nervos vagos. Identificação do pilar direito. Secção do ligamento gastrohepático, até à artéria coronária. Mobilização do estômago, com laqueação proximal dos vasos curtos. Reposição anatómica do fundo gástrico. Identificação da JEG e comprovação de adequado comprimento esofágico intra-abdominal. Reaproximação dos pilares do diafragma, com fio não absorvível. Realização de funduplicatura de Nissen.</p>
--

Tabela 17 – Abordagem transtorácica

<p>Redução da hérnia. Incisão do saco herniário. Disseção pelo plano correto visualizando o esófago, os nervos vagos e a pleura. Os bordos da disseção são: o pericárdio, anteriormente; a aorta, posteriormente; e a pleura, lateralmente. A mobilização circunferencial facilita a redução abdominal do saco herniário. Lise do ligamento gastresofágico. Divisão, proximal, dos vasos curtos gástricos. Identificação e preservação dos nervos vagos. Identificação da JEG e comprovação de adequado comprimento esofágico intra-abdominal. Criação de funduplicatura de Nissen Reaproximação dos pilares do diafragma com fio não absorvível. Reforço protésico seletivo da cruroplastia</p>
--

Tabela 18 – Abordagem laparoscópica

Nas hérnias volumosas os pilares do diafragma poderão não suportar suturas por se encontrarem muito atenuados. Nesta circunstância, a realização de incisão de relaxamento no diafragma permitirá retirar tensão ao hiato e a facilitar a reaproximação crural. A incisão de relaxamento deverá então ser revestida com prótese de polipropileno. Em alternativa o biomaterial pode ser, diretamente, aplicado na região do hiato. Destas duas opções, a primeira é preferível porque evita o contacto direto entre a prótese e o esófago. A taxa de recidiva é inferior nas séries que recorreram a prótese, comparativamente, à das que a ela não recorreram.

Outro importante detalhe técnico, capaz de influenciar o sucesso da reparação da hérnia paraesofágica, é a determinação do comprimento do esófago e a clara identificação de esófago curto. A evidência sugere que a falência em reconhecer o encurtamento esofágico, e subsequente falha em não realizar alongamento, resulta em maior incidência de hérnia recorrente.

Não existem critérios específicos para identificar, no pré-operatório, a necessidade de proceder a alongamento. Para calcular o comprimento esofágico, muitos cirurgiões recorrem á combinação de estudos pré-operatórios, ocorrências intraoperatórias e avaliação durante a dissecação da área gastresofágica.

Deverá ser adicionado um procedimento de alongamento (gastroplastia de *Collis*) quando, após mobilização, o comprimento do esófago intra-abdominal for inferior aos 2,5 cm. Numa cirurgia laparoscópica há tendência a sobrestimar o comprimento abdominal do esófago devido à elevação diafragmática causada pelo pneumoperitoneu e à tração inferior aplicada ao estômago.

Capítulo 3 – A Operação de Nissen. Experiência com Cem Casos Consecutivos

Neste capítulo reflito sobre a minha experiência com a funduplicatura de Nissen, por laparoscopia, num grupo de 100 doentes, consecutivos, com refluxo gastresofágico patológico, que operei, sem mortalidade, no Serviço de Cirurgia 6 do Hospital dos Capuchos, CHLC, EPE, ao longo de catorze anos.

Recorrendo aos meus registos clínicos, compilados numa base de dados relacional, verifiquei que a seleção dos doentes para a terapêutica cirúrgica, integrou a informação da anamnese com os resultados da endoscopia digestiva alta, da pHmetria de 24 horas e da manometria esofágica, sempre que possível. Na realização da funduplicatura total adotei uma técnica cirúrgica uniforme embora, ocasionalmente, com diferenças pontuais. O tempo médio de internamento pós-operatório foi de 4 dias. A catamnese em consulta externa, com recuo médio de 29 meses, abrangeu 96 doentes, dos quais 94% se encontram assintomáticos.

A. Doentes e métodos

Em 14 anos, de setembro de 1995 a março de 2009, Figura 1, operei, por laparoscopia, 100 doentes com DRGE, (60 mulheres e 40 homens), possuindo média etária de 45,7 anos (mínimo=21 anos e máximo=69 anos; mulheres=49,7 anos e homens=39,7 anos), e peso médio de 69,8 Kg (mulheres=65,7 Kg e homens=74,7 Kg).

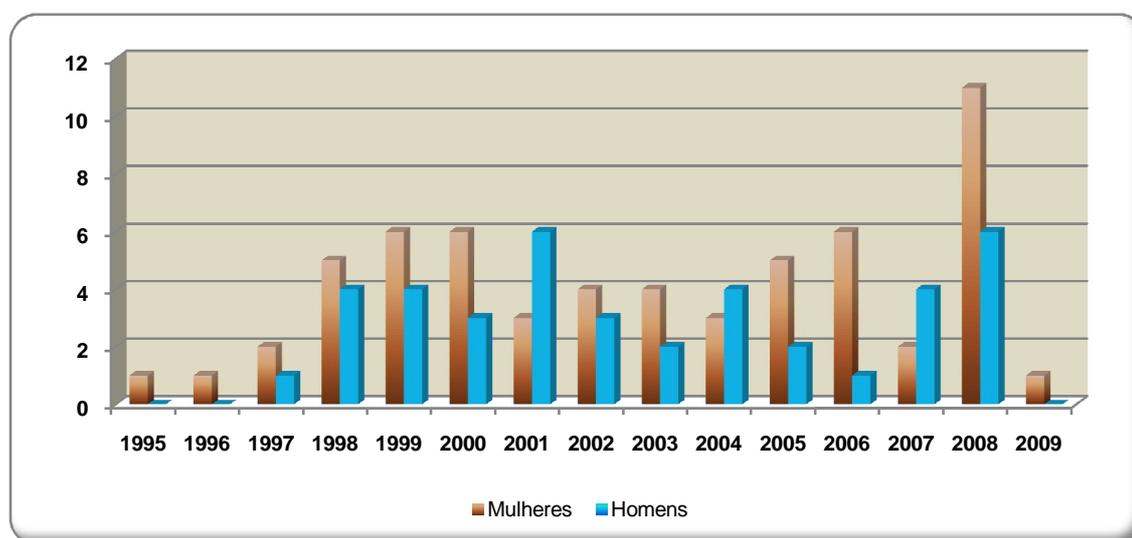


Figura 1 – Casuística operatória anual, 100 casos

Os doentes apresentavam sintomatologia de predomínio digestivo, desde que sem medicação específica, sendo, por vezes, resistentes ao tratamento com inibidores da bomba de prótons (IBP).

Sintomas e sinais	Hérnia de deslizamento n=71	Hérnia paraesofágica n=8	Ausência de hérnia hiatal n=21	Total n=100
Pirose	63	6	21	90
Regurgitação	56	6	18	80
Azia	53	5	15	73
Dor abdominal	36	8	10	54
Enfartamento	30	5	10	45
Disfagia	6	1	4	11
Odinofagia	8	0	2	10
Hemorragia digestiva recorrente	1	4	0	5
Queixas respiratórias	8	2	2	12

Tabela 19 – Incidência dos sintomas e dos sinais nos 100 doentes

Com evolução média das queixas de 5,9 anos (mínimo, 1 ano e máximo, 43 anos), 79 doentes tinham hérnia do hiato associada – de deslizamento, em 71 casos e paraesofágica, em 8 casos –. Os restantes 21 enfermos possuíam refluxo gastresofágico patológico, sem hérnia hiatal. A incidência dos sintomas e sinais, consoante a existência ou não de hérnia hiatal, é exposta na Tabela 19.

Quase todos os doentes tinham efetuado tratamento médico pré-operatório, maioritariamente, constituído por inibidor da bomba de prótons. Para obter melhor controlo das queixas, alguns realizavam associação farmacológica, ora com procinético, em 48 casos, ora com antiácido, em 17 casos.

Indicação operatória	Hérnia de deslizamento n=71	Hérnia paraesofágica n=8	Ausência de hérnia hiatal n=21	Total n=100
Falência da medicação	24	5	6	35
Intolerância medicamentosa	2	0	0	2
Esofagite de grau 4	6	0	1	7
Opção do doente por cirurgia	37	2	10	49
Sem referência	2	1	4	7

Tabela 20 – Indicação operatória nos 100 doentes

A indicação operatória teve a partição exibida na Tabela 20: falência do tratamento médico (persistência dos sintomas de refluxo, sob dose adequada de supressão ácida, por período mínimo de três meses) no controlo das queixas, em trinta e cinco casos; intolerância medicamentosa, em dois casos; esofagite de grau 4, em sete casos; opção do doente por cirurgia, apesar da eficácia do tratamento médico, em quarenta e nove casos.

Os doentes foram avaliados em consulta de anestesia, pré-operatória, e classificados como: ASA I, em 17 casos, ASA II, em 70 casos e ASA III, em 13 casos. A opção pela via laparoscópica fundamentou-se na ausência de contra-indicação a pneumoperitônio, em particular, de origem cardiovascular.

Exploração pré-operatória

A avaliação pré-operatória incluiu, sempre que possível, a endoscopia do esófago, estômago e duodeno, a pHmetria de 24 horas e a manometria esofágica e, ocasionalmente, o estudo radiológico contrastado do esófago, estômago e duodeno.

A endoscopia digestiva alta permitiu diagnosticar: a posição da junção pavimentoso-cilíndrica; a presença de esofagite, em 62 doentes; a existência e dimensão de hérnia do hiato, em 79 doentes; excluir neoplasia do esófago; rastrear e excluir patologia gastroduodenal.

A graduação da esofagite foi, de acordo com a classificação Savary-Miller: grau 0, em 38 casos; grau 1, em 24 casos; grau 2, em 23 casos; grau 3, em 8 casos; grau 4, em 7 casos, Tabela 21.

Escala Savary- Miller	Hérnia de deslizamento n=71	Hérnia paraesofágica n=8	Ausência de hérnia hiatal n=21	Total n=100
Grau 0 – Sem esofagite	25	7	6	38
Grau 1 – Erosão isolada	15	0	9	24
Grau 2 – Erosão múltipla	18	0	5	23
Grau 3 – Erosão circular	7	1	0	8
Grau 4 – Úlcera	6	0	1	7
Grau 5 – Esófago de Barrett	0	0	0	0

Tabela 21 – Graduação da esofagite, Savary-Miller, nos 100 doentes

A hérnia hiatal era de deslizamento, em 71 casos, e paraesofágica, em 8 casos. A associação de hérnia de deslizamento e esofagite estava presente, em 46 casos.

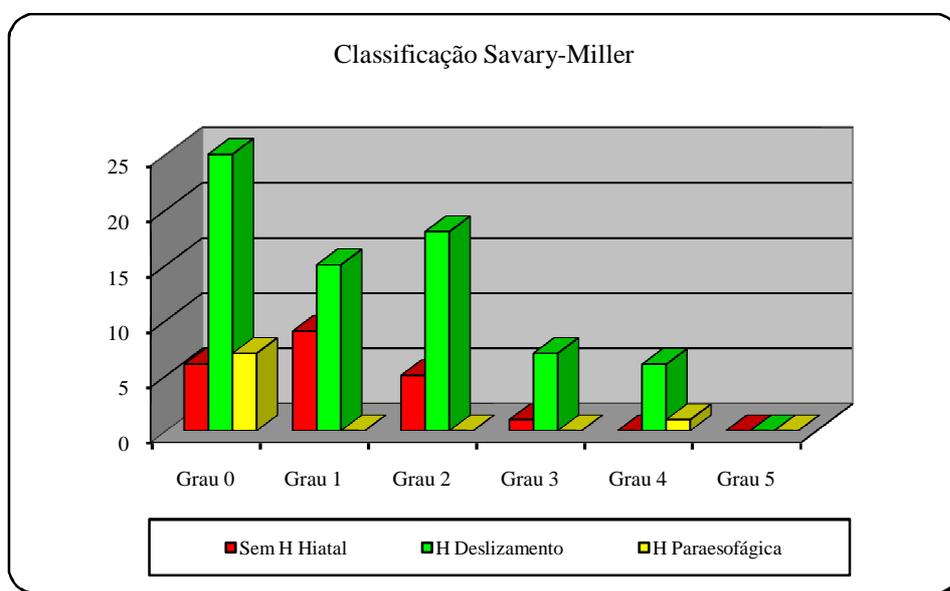


Figura 2 – Diagnóstico endoscópico nos 100 casos

A pHmetria de 24 horas permite discriminar entre refluxo fisiológico e patológico, sendo o meio complementar padrão para diagnóstico de DRGE. Os sintomas de DRGE são muitas vezes intermitentes, daí que, determinações representativas são melhor obtidas com registos prolongados; além disso, as alterações circadianas do biorritmo digestivo são melhor obtidas abrangendo o ciclo diário.

A pHmetria de 24 horas foi efetuada com cateter ,via transnasal, tendo o sensor de pH ficado posicionado a 5 cm, com o auxílio de manometria. Os doentes foram instruídos para assinalar, durante 24 horas, a posição corporal, os sintomas de refluxo, as refeições e a ingestão líquida. Os registos foram arquivados em dispositivo digital, para análise automática posterior, em programa de *software* específico.

Alguns dispositivos, com capacidade de integrar dois ou mais sensores, permitem o exame mais detalhado dos níveis ácidos em torno da junção esofagogástrica e no corpo do esófago proximal. Neste caso, o sensor referência fica posicionado a 5 cm do EEI e os restantes, proximais, localizados a 5, 10, 15 ou 20 cm do primeiro.

Se o sensor proximal, posicionado a 20 cm da junção esofagogástrica (JEG), mostrar a existência de refluxo tal, é muito sugestivo da existência de associação entre refluxo gastresofágico e sintomas respiratórios. Combinando a pHmetria de 24 horas com a medição da acidez gástrica, pode obter-se informação adicional, relativamente, ao refluxo alcalino e à eficácia da supressão ácida.

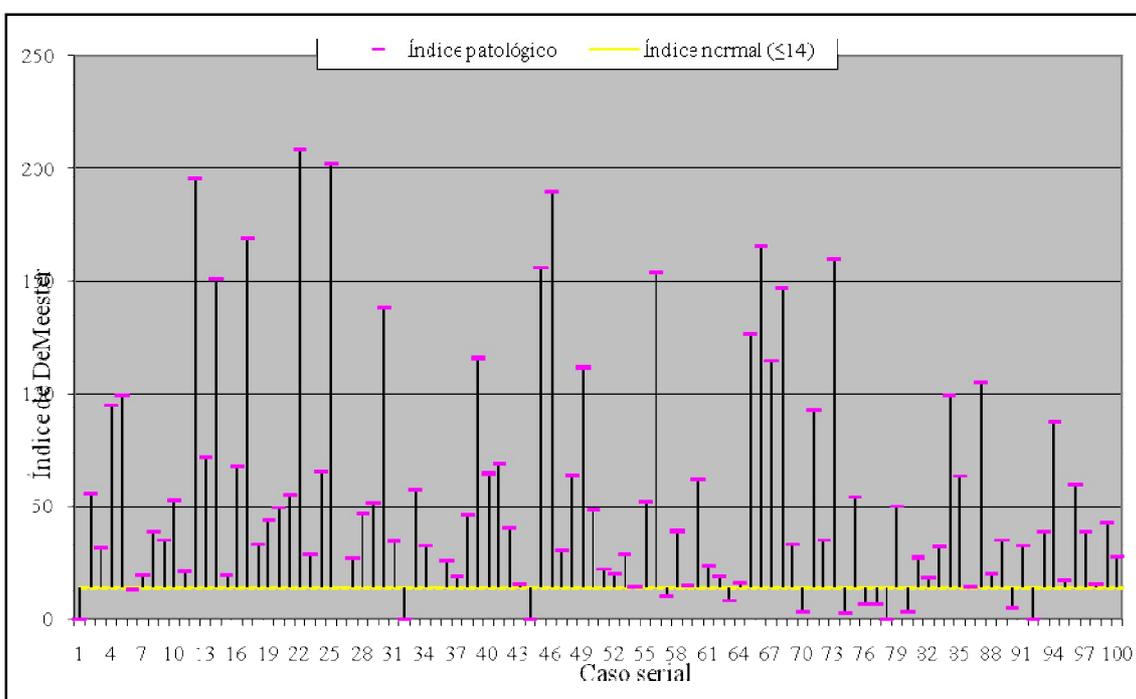


Figura 3 – Índices de DeMeester individuais pré-operatórios (pHmetria de 24 horas) nos 100 casos.

O conjunto dos 100 doentes possuía elevado número de episódios de refluxo, apresentando frequência média de 102,6 episódios, diários, na pHmetria de 24 horas. Os episódios predominavam na posição de pé (frequência média de 58). Os índices de DeMeester do conjunto apresentavam valor médio de 55,8, muito acima do padrão referencial, que é 14. Tais valores, expressavam a anormal exposição do esófago distal ao refluxo ácido e permitiram deduzir as dificuldades observadas no controlo farmacológico das queixas em 71% das situações.

Interpretei a variabilidade individual dos índices patológicos de DeMeester encontrados como correspondendo a diferentes graus de anomalia funcional do cárdia, certamente, influenciado pela existência de hérnia hiatal em 79 doentes.

Em síntese, o padrão de refluxo gastroesofágico patológico foi misto, em 38 casos; levantado, em 20 casos; deitado, em 20 casos; e indefinido ou normal, em 22 casos. Na Figura 3, refiro os índices de DeMeester^a individuais pré-operatórios dos 100 doentes, obtidos por pHmetria de 24 horas.

A manometria esofágica permite excluir alterações da motilidade, como a acalásia, e documentar a qualidade da peristálise esofágica. A existência de amplitude peristáltica fraca, ou a propagação débil da peristálise, não contraindica a cirurgia antirefluxo. A manometria é, igualmente, importante para a colocação precisa da sonda de pHmetria.

A manometria^b, realiza-se por via transnasal, com uma sonda contendo dez microsensores, espaçados com 1 cm de intervalo, registando-se a resposta manométrica a dez deglutições de líquido (*bolus* de 5 ml de água). A amplitude média e a duração das contrações esofágicas, em resposta às deglutições de líquido, são determinadas no esófago proximal (aos 15 cm), no esófago médio (aos 25 cm) e no esófago distal (aos 5 cm acima da JEG).

Nesta série, a manometria diagnosticou peristálise conservada, em 88 casos, ligeira hipomotilidade, em cinco casos, e foi omissa, em sete casos. O esfíncter esofágico inferior apresentava dimensão média de 2,77 cm e comprimento intra-abdominal médio de 1,04 cm; era normotensivo, em 44 casos; hipotónico, em 35 casos; e inconclusivo, em 21 casos; e exibia relaxamento completo, em 80 casos, e incompleto, ou de avaliação difícil, em 20 casos. A Figura 4 explicita os valores pré-operatórios de pressão do EEI, em simultâneo com o correspondente valor referência, em repouso.

EEI	Hérnia de deslizamento n=71	Hérnia paraesofágica n=8	Ausência de hérnia hiatal n=21
Comprimento total médio	2,5 cm	1,4	3,4 cm
Comprimento abdominal médio	0,8 cm	0	1,6 cm
Pressão média	16,9 cm	9,8	26

Tabela 22 – Manometria; associação entre a anomalia anatómica da JEG e disfunção EEI

B. Técnica operatória

Realizei as operações, sob anestesia geral, com o doente em decúbito dorsal e proclive (30°), colocando-me entre os seus membros inferiores. A algaliação foi seletiva, na previsão de cirurgia prolongada, e a entubação nasogástrica foi sistemática, para esvaziamento do estômago.

Protocolos de antibioprolaxia e de profilaxia do tromboembolismo (heparina de baixo peso molecular) foram aplicados de rotina. Nalguns casos, de hérnia do hiato volumosa, para oportuna identificação do esófago, solicitei a realização de endoscopia alta per-operatória por gastroenterologista.

^a Tempo de exposição anormal a pH ácido (<4). Índice de DeMeester normal ≤ 14. Padrão levantado = só na posição levantado, padrão deitado = só na posição deitado e, padrão misto nas duas posições.

^b Pressão EEI em repouso padrão = 37.55 mm Hg +/- 17.66/5.0 + 1.7 k Pa.

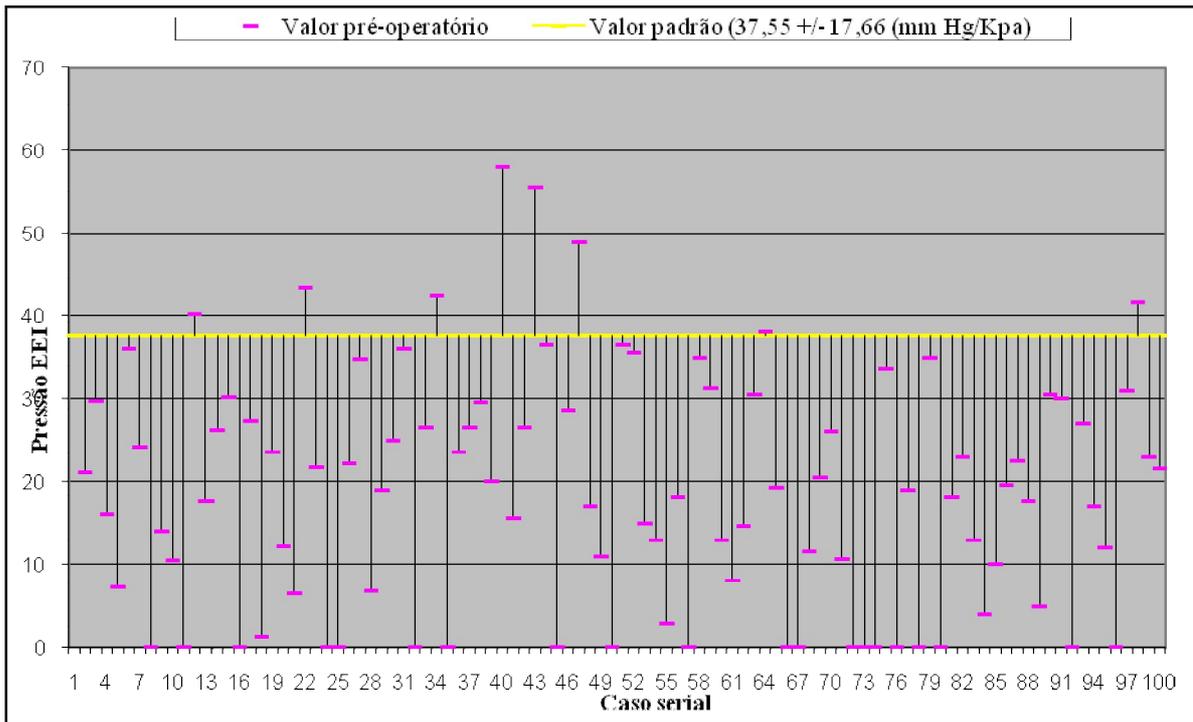


Figura 4 – Pressões EEI individuais pré-operatórias (manometria) nos 100 casos

Pneumoperitoneu (CO ₂) através de agulha de Veress, na região umbilical
Colocação de 5 portas, sendo o laparoscópio introduzido pela porta supraumbilical
Retração do lobo hepático esquerdo, cefálica e para a direita
Retração gástrica, caudal e para a esquerda
Redução de hérnia do hiato, quando presente
Incisão do epiploon gastrohepático (<i>pars</i> flácida), com preservação do ramo hepático vagal
Disseção do ligamento frenesofágico
Exposição do pilar direito do diafragma e seu afastamento do esófago
Disseção hiatal até a identificação da união dos dois pilares
Libertação da grande curvatura e fundo gástrico, com laqueação e divisão dos vasos curtos gástricos, no setor proximal da grande curvatura, desde o pólo inferior do baço
Divisão do ligamento pancreatogástrico posterior e dos vasos gástricos posteriores
Retração gástrica direita, com exposição do pilar esquerdo e seu afastamento do esófago
Identificação e disseção circunferencial, cerca de três centímetros, do esófago distal
Identificação e preservação dos nervos vagos, deixados em contato com a parede esofágica
Passagem de nastro, para retração, em torno do esófago e criação de ampla abertura retroesofágica
Miorrafia dos pilares do diafragma (reparação crural posterior ou cruoplastia) com fio não absorvível de calibre 0
Passagem, sem tensão, do fundo gástrico pela recém-criada abertura retroesofágica
Construção da funduplicatura, total, curta – cerca de 2 cm – lassa (mantendo a sonda nasogástrica) com fio não absorvível de calibre 0, sem tensão

Tabela 23 – Técnica cirúrgica laparoscópica adotada

Nos 100 doentes, efetuei funduplicatura de Nissen, por laparoscopia, adotando a técnica cirúrgica descrita na Tabela 23, depois de ter sido excluída a existência de anomalia grave da motilidade esofágica. Construí a funduplicatura, total, curta – com 1,5 a 2 cm de extensão, utilizando três pontos de fio não absorvível de seda 0, mediante sutura celioscópica, com nó intracorporal –, lassa e sem tensão. O primeiro ponto, interessando o esófago, localizado 1,5 a 2 cm proximal à junção esofagogástrica, o segundo ponto,

também interessando o esôfago, 1 cm distal do primeiro, e o terceiro ponto, incluindo a junção esofagogástrica, 1 cm distal do segundo. O tempo operatório médio foi de 199 minutos (mínimo = 85', máximo = 360').

Ocorrências intraoperatórias

Em dois doentes, ocorreu pneumotórax hipertensivo, por penetração do espaço pleural esquerdo, que solucionei realizando drenagem com tubo de pleurostomia. Em alguns casos, sucederam pequenos hematomas da face inferior do lobo esquerdo hepático, sem consequências, causados pelo afastador, manual, do lobo esquerdo hepático; tais ocorrências deixaram de suceder desde que utilizo um instrumento abdutor, fixo, de fígado, que introduzo por porta subxifoideia, de 5 mm.

C. Resultados

Pós-operatório inicial

No pós-operatório inicial estabeleci as rotinas: deambulação precoce; remoção da sonda nasogástrica, pelas 24 a 48 horas; suspensão, integral, da terapêutica antissecretora pré-operatória; início de dieta líquida às 24 horas; protocolo, de adaptação progressiva, a regime alimentar fracionado (pequenas refeições com intervalos de duas a três horas), de consistência crescente até normalização pela quarta semana; abstenção de ingestão de alimentos quentes, medicamentos em comprimidos ou em cápsulas (perigo de lesão esofágica), e de bebidas gaseificadas (perigo de síndrome “*gas-bloat*”), durante três meses.

Tempo de internamento

O tempo médio de internamento, pós-operatório, foi de 4 dias. Após alta hospitalar, os doentes foram orientados para comparência periódica na consulta externa: quinzenal no primeiro mês, mensal até aos três meses, semestral até ao ano, e anual a partir de então.

Morbilidade até aos trinta dias

Complicação	Nº de casos	Tratamento
Abcesso subfrênico direito (causa ignorada)	1	Drenagem por laparotomia
Embolismo pulmonar	1	Heparinoterapia
Hemorragia por porta umbilical	1	Transfusão de sangue [CE=2 Unidades]

Tabela 24 – Morbilidade até aos trinta dias

Morbilidade além dos trinta dias

Complicação	Nº de casos	Prevenção / Tratamento
Disfagia para sólidos, ligeira e fugaz	32	Regime alimentar de consistência líquida
Impacto alimentar acima da fundoplicatura	4	Remoção por endoscopia
Equimose esôfago por deglutição de osso	1	Vigilância
Saciedade precoce	Frequente	Regime alimentar fracionado
Dificuldade de eructação transitória	5	Abstenção de bebidas gasosas
Meteorismo	Frequente	Vigilância
Epigastralgias	7	Espasmolítico
Perda ponderal (média=7,1kg) temporária	Frequente	Normalização da ingestão calórica
Recidiva de pirose	6	IBP

Tabela 25 – Morbilidade além dos trinta dias

Mortalidade

Não ocorreu mortalidade.

Seguimento clínico

A catamnese abrangeu 96% doentes, cujo recurso periódico à consulta externa, se verificou com recuo médio de 30,7 meses (mínimo: 2 meses e máximo: 175 meses).

Os resultados da fundoplicatura laparoscópica e o grau de satisfação dos doentes foram determinados por entrevista clínica. Para tal utilizei a escala Visick cuja pontuação apresenta boa correlação com um questionário para sintomas de refluxo. Comparando com o respetivo estado pré-operatório, pedi aos doentes para opinarem sobre o efeito da cirurgia nos seus sintomas de refluxo segundo a escala Visick: resolução completa (grau I), melhoria (grau II), ausência de efeito da cirurgia (grau III), ou agravamento (grau IV). A presença de pirose, regurgitação e disfagia foram avaliados, usando um sistema combinado de graduação da frequência e da gravidade desde 0 (assintomático) a 3 (sintomas frequentes e graves).

Conforme a escala Visick, 90 dos 96 doentes entrevistados (94%) obtiveram boa resposta clínica, estando assintomáticos (graus I e II). Em 6 casos (6%) os resultados foram fracos (graus III e IV), tendo a recidiva de pirose manifestado aos três meses (1 caso), ao ano (1 caso), aos três anos (três casos) e aos seis anos (um caso).

Escala Visick	Sintoma	Nº de casos (%)	Seguimento clínico
I – II	Assintomático	90 (94%)	Entrevista periódica
III – IV	Pirose recorrente	6 (6%)	Idem + MCDT R/ IBP

Tabela 26 – Seguimento clínico em consulta externa

Avaliação pós-operatória por exames complementares

A um grupo de 20 indivíduos operados solicitei a realização de exames complementares de controlo, idênticos aos requisitados no pré-operatório, para diagnosticar ou caracterizar as queixas de DRGE: endoscopia alta, pHmetria de 24 horas, manometria esofágica. O intervalo médio entre a operação e a reavaliação por exames auxiliares foi de 305 dias (mínimo = 49 e máximo = 726).

A ocasião e a intenção subjacentes à reavaliação tiveram como móbil a aferição do método cirúrgico num subgrupo de catorze voluntários assintomáticos, pelos seis meses de pós-operatório, no começo da minha experiência com a operação de Nissen; e a investigação por reaparecimento de queixas sugestivas de refluxo gastresofágico patológico recorrente noutro subgrupo de seis casos.

Aferição do método em catorze voluntários assintomáticos

pHmetria de 24 horas	Nº médio de refluxos (Diários)		Índice DeMeester médio (Normal ≤ 14)	
	Pré-operatório	Pós-operatório	Pré-operatório	Pós-operatório
Assintomáticos n=14	76,5	7,5	50,4	1,8

Tabela 27 – pHmetria de 24 horas, de reavaliação pós-operatória, em 14 voluntários

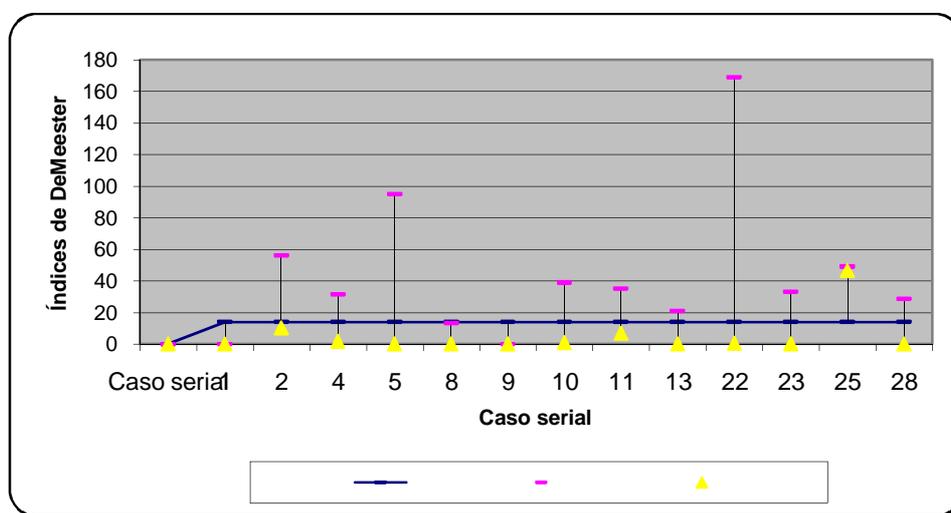


Figura 5 – Índices de DeMeester, antes e após funduplicatura total, em 14 voluntários

Nos catorze voluntários assintomáticos, os resultados da pHmetria de 24 horas, pós-operatória, Tabela 27, mostraram grande redução do número médio de episódios de refluxo diários e do índice de DeMeester, médio, obtidos com a funduplicatura de Nissen. A Figura 5 exhibe e compara os índices de DeMeester individuais, destes casos seriais investigados, antes e após funduplicatura total.

EEI	Comprimento médio do EEI (cm)				Pressão média do EEI mmHg/kPa	
	Total		Abdominal		Pré-operatório	Pós-operatório
	Pré-operatório	Pós-operatório	Pré-operatório	Pós-operatório		
Assintomáticos n=14	2,2	5	0,9	2,7	17,6	38,3

Tabela 28 – Manometria pós-operatória em 14 voluntários

De igual modo, o EEI mostrou melhoria dos parâmetros relacionáveis com o respetivo desempenho funcional, na reavaliação manométrica pós-operatória. A influência corretora da funduplicatura total adveio das transformações induzidas: o comprimento total, médio, pré-operatório, que era de 2,2 cm, passou, no pós-operatório, a ser de 5 cm; a dimensão intra-abdominal, média, prévia, que era de 0,9 cm, passou a ser, no pós-operatório, de 2,7 cm; o relaxamento do EEI mostrou-se completo nos 14 casos; e o valor médio de pressão do EEI, que, no pré-operatório, era de 17,6 mmHg/kPa, passou a ser, no pós-operatório, 38,3 mmHg/kPa. A Figura 6 explicita a correlação entre os valores de pressão do EEI, pré- e pós-operatórios, em paralelo com o correspondente valor referência, em repouso, dos casos reavaliados.

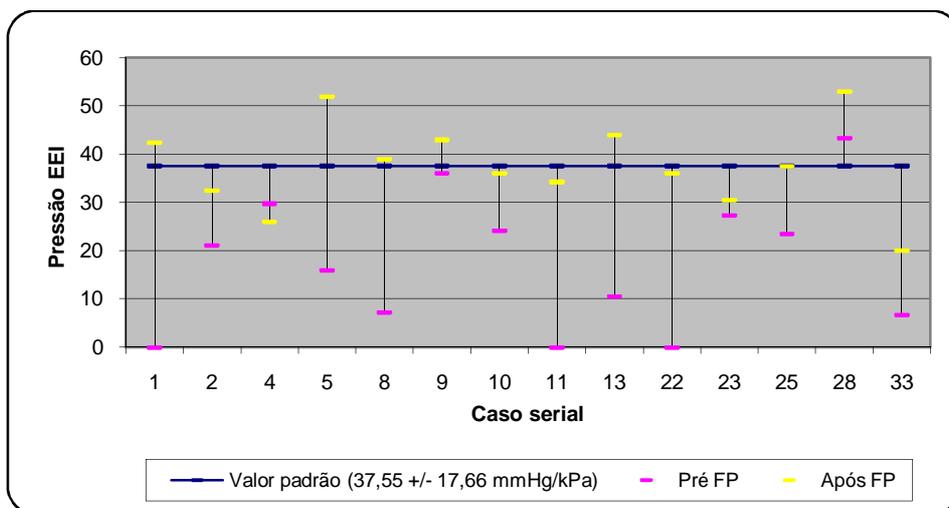


Figura 6 – Pressões EEI individuais, antes e após funduplicatura total, em 14 voluntários

As análises gráficas dos índices de DeMeester e das pressões EEI individuais dos catorze indivíduos assintomáticos foram complementadas pela aplicação do teste de Wilcoxon. No que refere aos índices de DeMeester, verificou-se que, após funduplicatura total, os mesmos se tornaram significativamente inferiores aos observados antes da cirurgia ($p=0.0001$). De igual modo se verificou que os valores das pressões do EEI após a operação de Nissen se tornaram significativamente superiores aos observados no pré-operatório ($p=0.0001$).

Investigação por queixas de refluxo gastresofágico patológico recorrente

Seis doentes voltaram a ser medicados, com inibidores da bomba de prótons, por apresentarem recidiva das queixas de refluxo gastresofágico; dois durante o primeiro ano, dois após 3 anos e um após 6 anos de operados. Quatro pertencem ao género feminino e dois ao masculino; a média etária deste subgrupo foi de 38,8 anos.

EEI	Comprimento médio do EEI (cm)				Pressão média do EEI mmHg/kPa	
	Total		Abdominal		Pré-operatório	Pós-operatório
	Pré-operatório	Pós-operatório	Pré-operatório	Pós-operatório		
Sintomáticos n=6	3,65	4,62	1,55	2,11	22,2	33,68

Tabela 29 – Manometria pós-operatória em seis casos de recorrência

pHmetria de 24 horas	Nº médio de refluxos (Diários)		Índice DeMeester, médio (Normal ≤ 14)	
	Pré-operatório	Pós-operatório	Pré-operatório	Pós-operatório
Sintomáticos n=6	64,8	52,4	29	12,7

Tabela 30 – pHmetria de 24 horas pós-operatória em seis casos de recorrência

A reavaliação do EEI por manometria mostrou que a aparente melhoria pós-operatória do comprimento total médio, da dimensão intra-abdominal média e da pressão média do esfíncter, relativamente aos valores congéneres pré-operatórios, foram insuficientes para impedir o elevado número médio de episódios de refluxo diários evidenciados pela pHmetria 24 horas, pós-operatória, Tabelas 29 e 30.

D. Cotejo dos resultados obtidos com a cirurgia antirefluxo laparoscópica com os de séries da literatura

A cirurgia antirefluxo laparoscópica é uma opção terapêutica para a DRGE, segura, eficaz e durável. Múltiplos estudos, com catamneses superiores a 11 anos, têm analisado os resultados, a curto e a longo prazo, da cirurgia antirefluxo laparoscópica.¹³⁷

Resposta dos sintomas típicos da DRGE à cirurgia antirefluxo

Em catamneses, de curto e longo prazo (superior a cinco anos), os sintomas típicos da DRGE melhoraram, após cirurgia antirefluxo, na maioria dos doentes operados.¹³⁸

Com a cirurgia antirefluxo laparoscópica ocorre melhoria dos sintomas atípicos em 67% a 92% dos doentes.¹³⁹ A pirose melhora, expressivamente,^{140,141} embora, a taxa de recorrência possa chegar a 10%.^{142,143} Igualmente, há grande melhoria da regurgitação em 87% a 97% dos casos;¹⁴⁴ apesar de, a taxa da sua recorrência ficar entre 0 e 11%.¹⁴⁵

O controlo dos sintomas poderá modificar-se ao longo do tempo, na medida em que, períodos de catamnese mais curtos, três anos, mostram melhor controlo dos sintomas (90%), comparativamente, ao registado em períodos mais duradouros, sete anos, (67%).¹⁴⁶

Tem sido observada melhoria nos doentes com esófago de Barrett,¹⁴⁷ nos idosos e, nos casos de esofagite pré-operatória.¹⁴⁸

Disfagia pós-operatória manifesta-se com alguma frequência, sendo referidas: taxas de reintervenção, para correção, entre 1,8 e 10,8%,^{149,150,151} e, de dilatação, endoscópica, entre 0 e 25%.^{152,153} A maioria dos estudos refere valores de disfagia, precoce e ligeira, durante o primeiro ano, pós-operatório, inferiores a 20%^{154,155} e a longo prazo, entre 5% e 8%.¹⁵⁶ A incidência desta manifestação é menor quando a dimensão da fundoplicatura é de 1,5 cm.¹⁵⁷

São causas potenciais de disfagia pós-operatória: fundoplicatura total, dimensão da plicatura superior a três centímetros, encerramento excessivo dos pilares do diafragma, torção do esófago terminal, passagem retrogástrica estreita, plicatura com o corpo e não com o fundo, edema da fundoplicatura. A divisão dos vasos curtos gástricos reduz a probabilidade de incidência de disfagia.

Na presente série, trinta e dois doentes (32%) manifestaram disfagia pós-operatória para sólidos, ligeira e fugaz, que cedeu, espontaneamente, a regime alimentar de consistência líquida. Observei que a não divisão dos vasos curtos gástricos (29 casos) foi sucedida de disfagia em 45% enquanto após a sua laqueação (71 casos) apenas sucedeu em 11% dos casos. Dificuldade de eructação, não quantificada, surgiu, em alguns casos, em grau ligeiro e não perturbador. Apesar de nenhum doente ter necessitado de dilatação endoscópica no pós-operatório, em quatro casos (4%) houve que proceder a remoção endoscópica de impacto alimentar sólido acima da fundoplicatura. Nenhum doente necessitou de reintervenção.

No período de catamnese que analisei, recuo médio de 30,7 meses (mínimo: 2 meses e máximo: 175 meses), 94% dos doentes operados estavam assintomáticos; no entanto, seis voltaram a ser medicados, com IBP, por apresentarem recidiva das queixas de refluxo gastresofágico; dois durante o primeiro ano, três após 3 anos e um após 6 anos.

Resposta dos sintomas atípicos à cirurgia antirefluxo

Sintomas respiratórios, como a tosse, melhoram, significativamente, com a cirurgia antirefluxo laparoscópica com taxas: de cura de 53%, e de alívio, a curto prazo, de 69% a 100%, e, a longo prazo, de 71%.^{158,159} A rouquidão, a orofaringite e a bronquite, também, melhoram, significativamente, com a cirurgia. O mesmo sucede com os sintomas pulmonares, aspiração e dispneia.^{160,161} Enquanto alguns estudos referem melhoria da asma e da laringite com a cirurgia antirefluxo laparoscópica, outros são inconclusivos.

Resultados objetivos

Existe melhoria funcional, incluindo aumento expressivo da pressão do EEI^{162,163} e diminuição significativa à exposição ácida, com a cirurgia antirefluxo laparoscópica,¹⁶⁴

sendo que, em estudos, de curto e de longo prazo, ocorreu regresso ao normal dos valores de pHmetria de 24 horas em 88% a 94% dos doentes.¹⁶⁵

Como descrevi, em catorze voluntários, a quem solicitei manometria e pHmetria de 24 horas, pelos seis meses de pós-operatório, pude documentar o benefício funcional proporcionado pela cirurgia antirefluxo laparoscópica.

Complicações pós-operatórias

As taxas de conversão variam de 0 a 24%. As séries de centros de referência referem índices de conversão inferiores a 2,4%.¹⁶⁶ As taxas de complicação, relacionadas com a cirurgia antirefluxo laparoscópica, variam de acordo com a experiência e a técnica. Nesta série tive necessidade de converter, em laparotomia, oito doentes, por dificuldade técnica, relacionada com a obesidade ou com o volume inusitado da hérnia do hiato, os quais não incluí na análise.

As complicações intraoperatórias próprias da cirurgia antirefluxo laparoscópica incluem a perfuração gástrica e esofágica, e o pneumotórax. A taxa de perfuração gástrica e esofágica, variável em função da técnica e da experiência, situa-se entre 0 e 4%, sendo superior (4%) após funduplicatura de reintervenção.^{167,168} Analisando as técnicas de cirurgia antirefluxo laparoscópica, especialmente a de Belsey por toracoscopia, outros referiram taxas superiores de perfuração gástrica e esofágica (6,7% a 9,1%).¹⁶⁹ Na presente série não ocorreu perfuração destes órgãos.

O pneumotórax intraoperatório é, em regra, detetado pelo anestesista. O diagnóstico é realizado através de espirometria contínua, CO² medido no final da expiração, curva de pressão volume e aumento da pressão nas vias aéreas.¹⁷⁰ Em regra, o pneumotórax resolve, espontaneamente, após esvaziamento do pneumoperitoneu. As taxas de pneumotórax variam entre 0 e 1,5%, na maioria das séries de cirurgia antirefluxo laparoscópica. Esta complicação, raramente, necessita de intervenção porque, em regra, envolve lesão da pleura e não do pulmão. Duas séries que avaliaram o uso de robot determinaram taxa de 5% no grupo robot e 4% no grupo laparoscópico.^{171,172} No início da série atual, ocorreu pneumotórax esquerdo peroperatório, hipertensivo, em dois doentes (2%), em resultado de penetração do espaço pleural, que requereram drenagem, imediata, com tubo de pleurostomia. A exposição sequencial do pilar direito e da confluência dos dois pilares do diafragma, durante a disseção da face posterior da junção esofagogástrica, é a atitude técnica decisiva de profilaxia desta complicação.

Dependendo da técnica usada, a duração da operação varia entre 49 e 210 minutos. Nos centros com grande volume casuístico, o tempo operatório, que melhora com o aumento da casuística, é de 49 a 120 minutos. O tempo de internamento após cirurgia varia entre 1 e 4 dias. No único estudo que avaliou a relação entre a curva de aprendizagem e os resultados, os autores compararam os resultados obtidos entre a experiência inicial e posterior de apenas um cirurgião e constataram que a taxa de complicações não diferiu entre dois grupos de 25 doentes, tratados com intervalo de 7 anos. Assim, nos dois períodos, os doentes tiveram taxas elevadas de disfagia (23% versus 21% aos dois anos), persistência da pirose (27% versus 25%) e persistência de regurgitação (8% versus 12%). Nesta série, o tempo operatório médio foi de 199 minutos (mínimo = 85', máximo = 360') e o tempo médio de internamento pós-operatório foi de 3,9 dias.

A funduplicatura de Nissen, por laparoscopia, para tratamento da DRGE tem um aceitável perfil de risco, dado o muito baixo índice de morbidade e mortalidade. A mortalidade pós-operatória (30 dias), sendo, raramente, referida, é, em regra, de 0%. A morbidade relacionada com as incisões inclui a infecção (0,2% a 3,1%) e a hérnia incisional, pelos orifícios das portas (0,17% a 9%). As taxas de hérnia hiatal e de migração da funduplicatura (0,8% e 26%) estão relacionadas com a técnica e a duração da catamnese. O reforço protésico do hiato proporciona uma significativa redução da incidência de hérnia do hiato e de migração da funduplicatura. As taxas de reoperação (0% a 15%) também variam conforme a técnica, a indicação e a catamnese.¹⁷³

Medicação inibidora da secreção ácida pós-operatória

Após cirurgia antirefluxo, a retoma da medicação com IBP, pelos doentes, apresenta ampla variação (0% a 62%), em catamneses de curto e de longo prazo. O uso de medicação, a longo prazo, varia entre 5,8% e 62%, se bem que a maioria dos estudos refira inferior a 20%.^{174,175} Nesta série, seis doentes voltaram a ser medicados com IBP por manifestarem recidiva das queixas de refluxo gastresofágico.

Qualidade de vida e satisfação com a cirurgia

As taxas de satisfação com a cirurgia variam entre 62% e 97%, oscilando, as de longo prazo (catamnese superior a 5 anos), entre 80% e 96%. Adicionalmente, em catamneses, de curto e de longo prazo, 81% a 96% dos doentes referiram que voltariam a ser operados, se fosse necessário. Estudos de curto e de longo prazo, através de inquéritos de avaliação da qualidade de vida, mostraram melhoria significativa da qualidade de vida após cirurgia antirefluxo laparoscópica.¹⁷⁶

Resumo

A funduplicatura de Nissen, por laparoscopia, é muito eficaz no tratamento da DRGE e, substituiu a funduplicatura, por laparotomia, como tratamento cirúrgico, *gold standard*, dos doentes com DRGE, que não responderam, satisfatoriamente, ao tratamento médico.¹⁷⁷ Na minha série, em catamnese com recuo médio 30,7 meses, 94% dos doentes obtiveram alívio completo dos sintomas de refluxo, persistem assintomáticos e apresentam elevado grau de satisfação. Num grupo de catorze voluntários, assintomáticos, a eficácia da funduplicatura foi comprovada pela normalização, com significado estatístico, da pHmetria de 24 horas e da manometria, pós-operatórias. Com critérios estritos de seleção (consulta multidisciplinar de cirurgia e gastroenterologia), experiência e padronização da técnica cirúrgica, a funduplicatura total, laparoscópica, proporciona resultados eficazes, seguros e duradouros. Na prevenção de disfagia pós-operatória importa atenção especial à disseção retroesofágica e retrogástrica, à cruroplastia (sem aproximação excessiva dos pilares do diafragma), e à construção de uma funduplicatura completa, curta, lassa e sem tensão em torno do esfago distal.

Capítulo 4 – Funduplicatura Total e Perfusão do Fundo Gástrico

Funduplicatura total

A funduplicatura de Nissen-Rossetti, sem laqueação nem divisão dos vasos curtos gástricos, é um tratamento cirúrgico da DRGE, assaz, aceite quando os doentes não respondem ao tratamento farmacológico padrão. A mobilização parcial do esófago distal e do fundo gástrico, com a respetiva translocação fúndica, retroesofágica, propõem-se restaurar uma zona de alta pressão, através da criação de uma braçadeira antirefluxo em torno do EEI. A funduplicatura representa uma nova condição anatómica na área do cárdia que resulta na melhoria da função e da competência do mecanismo antirefluxo, em particular do EEI, o seu elemento mais importante. O benefício da funduplicatura, na motilidade esofágica, é óbvio.

Perfusão do fundo gástrico

A fluxometria Doppler a *laser*, um instrumento de pesquisa e diagnóstico seguro na avaliação do fluxo sanguíneo na microcirculação, tem aplicação em áreas de diagnóstico e tratamento de patologias do esófago e do estômago.

É um método de investigação útil na avaliação da perfusão do esófago e do estômago;^{178,179} da influência de medicamentos no fluxo sanguíneo gástrico,^{180,181,182,183,184,185} na avaliação da perfusão dos substitutos esofágicos, usados em cirurgia de substituição, após esofagectomia;^{186,187} e, finalmente, na avaliação da microcirculação de perfusão de tumores benignos e malignos do estômago e respetivas margens.¹⁸⁸ Existem várias sondas Doppler a *laser* para monitorização do fluxo sanguíneo gástrico durante os procedimentos, quer endoscópicos, quer em cirurgia aberta. Na cirurgia aberta, as sondas podem ser posicionadas, quer na superfície serosa, quer na mucosa. São escassos os dados relativos ao impacto (influência) da funduplicatura Nissen-Rossetti na perfusão da microcirculação do fundo gástrico.

Diversas medições da perfusão em repouso, quer em indivíduos saudáveis, quer em doentes DRGE, mostraram que o fundo gástrico tem a mais elevada perfusão microcirculatória^{189,190,191}. A elevada perfusão do fundo está relacionada com a topografia anatómica da árvore vascular e sugere um mecanismo protetor de maior fluxo de sangue nesta área e no EEI.

Do ponto de vista histológico, o fundo e o corpo gástricos possuem células parietais que são responsáveis pela produção de ácido gástrico. A monitorização circadiana do pH esofágico mostrou a ocorrência de curtos episódios de exposição da mucosa esofágica ao ácido gástrico, associados com refluxo gastresofágico. Este fenómeno induz aumento de perfusão no esófago e no fundo gástrico. Como consequência, há um aumento da concentração de tampões de bicarbonato na matriz intracelular. O aumento do fluxo sanguíneo promove a remoção do dióxido de carbono, em excesso, e assegura o adequado fornecimento de oxigénio e de nutrientes que, em condições fisiológicas, desempenham um mecanismo protetor da mucosa e são cruciais nos processos de regeneração.¹⁹² Este efeito protetor, por aumento de perfusão, foi confirmado em muitos estudos experimentais.

Os aumentos de perfusão promovem a cura de úlceras.^{193,194} Os doentes com gastrite têm redução do fluxo sanguíneo da mucosa gástrica.¹⁹⁵ O ritmo circadiano fisiológico de perfusão gástrica encontra-se perturbado nos doentes com gastrite e, completamente, dessincronizado nos doentes com úlcera gástrica crónica. Não existem publicações que comparem determinações circadianas do pH com o ritmo diurno-noturno do fluxo sanguíneo na microcirculação do estômago. No entanto, parece que aqueles ritmos podem ser interdependentes o que, parcialmente, poderia explicar as reações hiperémicas da microcirculação aos episódios de refluxo gastresofágico.

A funduplicatura promove aumento da perfusão em repouso em todos os doentes operados por DRGE, quando se comparam estes resultados com as determinações anteriores ao procedimento antirefluxo. A hiperperfusão é provocada por dois mecanismos: aumento do fluxo sanguíneo médio e aumento da amplitude e frequência vasomotoras. Na região do fundo gástrico a funduplicatura condiciona uma nova condição anatómica do fluxo e da sua distribuição sanguínea. Os procedimentos antirefluxo condicionam uma resposta hiperémica local. O aumento de perfusão pode proteger a mucosa contra as consequências da sua exposição ao ácido.

A intensificação vasomotora possui um efeito benéfico sobre a motilidade gástrica e esofágica.¹⁹⁶ Adicionalmente, em condições isquémicas ocorre aumento da amplitude e da frequência vasomotoras. Tal reação, protege os tecidos contra a isquémia, mediante aumento do fluxo sanguíneo total, na microcirculação. Deste modo, o aumento da amplitude e da frequência vasomotoras, decorrente da hiperémia local após funduplicatura, protege a mucosa e acelera o processo regenerativo.

Quando, experimentalmente, se provoca tensão excessiva da braçadeira antirefluxo, tal manobra origina redução significativa da perfusão fúndica. Daí poder inferir-se que decréscimos da perfusão sejam sugestivos de que a braçadeira é confeccionada sob tensão excessiva, o que pode provocar disfagia e isquémia fúndica. A isquémia fúndica pode influenciar, negativamente, a motilidade e impedir a regeneração da mucosa do cárdia.

A medição do fluxo sanguíneo fúndico com fluxometria Doppler a *laser* pode ser útil em avaliar se a braçadeira fúndica foi confeccionada sob tensão apropriada. Tal medição, constitui uma opção alternativa a outros métodos aplicados durante a realização da funduplicatura: confeção da braçadeira em torno de um calibrador intraluminal ou com controlo manométrico simultâneo; palpação da braçadeira, em cirurgia aberta, (introdução, suave, de um dedo sob a braçadeira, lateralmente ao esófago).^{197,198}

A redução da perfusão sanguínea na microcirculação do fundo gástrico durante a construção da braçadeira antirefluxo pode ser indicação direta para mobilização mais extensa do fundo gástrico, dissecação de uma abertura retroesofágica mais espaçosa e, finalmente, divisão dos vasos curtos gástricos que, acessoriamente, pode influenciar a microperfusão regional.

Justificação da pertinência da tese

Na atualidade, a funduplicatura de Nissen – total, curta, lassa e sem tensão – realiza-se por laparoscopia. Na sua execução, os vasos curtos gástricos são laqueados, numa extensão que permite a mobilização completa do fundo, cujo bordo externo, após transposição retroesofágica, é enrolado em torno do esófago distal e suturado ao seu bordo interno.¹⁹⁹

Efetuada a operação de Nissen por laparoscopia, para tratamento da doença de refluxo gastresofágico, associa-se, de rotina, a laqueação dos vasos curtos gástricos, para construção de uma funduplicatura completa, com as características descritas. A laqueação dos vasos curtos gástricos é realizada, no setor proximal da grande curvatura, em extensão variável, conforme as características anatómicas do doente, com início no polo inferior esplénico e, seccionando em sentido craniano, até ao pilar esquerdo do diafragma para adequada libertação do fundo gástrico.

Sabendo que a operação de Nissen-Rossetti (funduplicatura total, apenas) provoca aumento da perfusão do fundo gástrico devido ao acréscimo do fluxo sanguíneo médio e ao aumento da amplitude e da frequência vasomotora, senti curiosidade em avaliar a repercussão exercida sobre o calibre arteriolar do fundo gástrico, pela aduzida laqueação dos vasos curtos gástricos, enquanto gesto técnico que, como referi, aperfeiçoa a qualidade da funduplicatura total.

Procurando um modelo para refinar a compreensão das consequências da associação da laqueação dos vasos curtos gástricos à técnica de Nissen, solicitei à Direção do Departamento de Anatomia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa oportunidade para efetuar um Projeto de experimentação em cobaias, que idealizei e estruturei de acordo com os princípios dos 3R – *Replacement, Reduction, Refinement* – da técnica de experimentação humana de Russell e Burch, dirigido à prospeção de variações de calibre microvascular que pudessem estar associadas à laqueação dos vasos curtos gástricos na operação de Nissen.

A funduplicatura de Nissen por via aberta e, mais recentemente, por laparoscopia é um método validado para o tratamento cirúrgico da DRGE. No entanto, que alteração vascular provoca na microcirculação arteriolar da parede gástrica?

Hipótese experimental

<p>A laqueação dos vasos curtos gástricos, durante a realização da operação de Nissen desencadeia um mecanismo de adaptação da microcirculação do fundo gástrico que se poderá manifestar como alteração do calibre arteriolar – na forma de vasodilatação?</p>
--

PARTE II – PROJETO DE EXPERIMENTAÇÃO. MATERIAL E MÉTODOS

Capítulo 5 – Escolha da Espécie Animal

A. Razões da escolha da espécie

Na ausência de modelos animais validados para o estudo de procedimentos terapêuticos de situações patológicas de refluxo gastroesofágico, procurei desenvolver um arquétipo alternativo ao humano para refinar as técnicas cirúrgicas que emprego, regularmente.

A opção pela cobaia (*Cavia Porcellus*)^c foi devida à parecença da respetiva anatomia vascular gástrica com a humana. Por isso, propus a sua utilização para um estudo experimental sobre vascularização do estômago, no qual pudesse avaliar as consequências da laqueação dos vasos curtos gástricos sobre a microcirculação do fundo gástrico.

As publicações sobre angiormorfologia do estômago da cobaia são escassas. A pesquisa bibliográfica a que procedi no ano dois mil e nove, incluindo a resposta dada pelo Centro de Estudos Angiológicos da Faculdade de Veterinária de Barcelona, mediante requerimento específico por intermédio da Faculdade de Medicina de Veterinária de Lisboa, evidenciou ser um assunto pouco versado.

As cobaias alocadas ao Projeto, sendo produzidas no biotério do Centro de Investigação do Departamento de Anatomia da FCM-UNL, possuíam qualidade microbiológica convencional. O Projeto não se encontrou ligado a qualquer outro de âmbito mais alargado. Tratando-se de um animal de laboratório, usado noutros trabalhos experimentais em curso no Centro de Investigação do Departamento de Anatomia da FCM-UNL, houve, desde o início, a preocupação de que a sua escolha possibilitasse a partilha dos animais com outros investigadores, mediante a integração dos respetivos projetos experimentais, com vista à conseqüente redução do número total de cobaias utilizadas.

B. Anatomia do estômago da cobaia

O estômago da cobaia situa-se na cavidade esplâncnica abdominopélvica, onde cada órgão ocupa o lugar deixado livre pelas vísceras vizinhas. É um órgão cavitário, acinentado, com forma de saco alongado, levemente, achatado de diante para trás, identificando-se as paredes cefálica e caudal, dois bordos, um corpo, e duas extremidades (direita e esquerda). Os bordos constituem as curvaturas. A pequena curvatura, côncava e voltada para a direita e para cima, inicia-se no cárdia e termina no piloro. Apresenta uma angulação no limite da porção pilórica, a incisura angular.²⁰⁰

A pequena curvatura corresponde ao ligamento hepatogástrico que entra na constituição do pequeno epiploon; a grande curvatura, de maior dimensão, estende-se do início do fundo ao piloro, estando voltada para a esquerda e para baixo. O grande epiploon insere-se ao longo de todo o seu comprimento. O fundo gástrico constitui a extremidade esquerda, sendo um fundo de saco arredondado, mais ou menos elevado acima do cárdia, no limite do qual se encontra a incisura cárdica. A porção pilórica forma a

^c Não existem regras quanto à escolha de um modelo animal adequado, nem existem regras para a extrapolação dos resultados do modelo para uma outra espécie animal ou homem. No entanto, é muito importante ter conhecimento de relevantes aspetos comparativos biomédicos. Beynen C and Hau in *Animal models*, 2007, Chapter 10, pg199.

extremidade direita, terminando no piloro. A conformação interna mostra uma mucosa glandular, lisa, salvo na região pilórica onde existem algumas pregas longitudinais. A mucosa do fundo tem cor cinzenta esverdeada e a pilórica amarela avermelhada.²⁰¹

O estômago tem, em média, cinco centímetros de comprimento, três centímetros de largura e quinze a vinte e cinco mililitros de capacidade. O duodeno constitui a primeira porção do intestino, possui uma característica forma em S, mede entre oito e doze centímetros de comprimento e apresenta o pâncreas agregado na segunda porção.²⁰²

Na cavidade abdominal anterior esquerda, o estômago contacta anteriormente com o fígado (correspondendo a parte inferior da parede anterior do estômago aos lobos hepáticos lateral e intermédio esquerdos) e atrás com o intestino, que o pressiona e empurra para diante. A parede posterior fúndica contacta com o baço e os pilares do diafragma. Ao longo da parede abdominal esquerda, o estômago estende-se entre o sétimo e o décimo espaço intercostal. O eixo cárdia-piloro é transversal, a pequena curvatura possui orientação crânio-dorsal, e a grande curvatura tem orientação ventral. Apesar de encaixada na concavidade diafragmática, a grande curvatura pode alcançar a parede abdominal ventral, quando o estômago está em repleção.²⁰³

O domínio relativo da artéria gástrica esquerda manifesta-se na pequena curvatura, no piloro e na primeira porção do duodeno, onde, comparativamente com outras espécies, irriga uma parte mais extensa do estômago. A artéria não se estende à grande curvatura, mas fornece a maior parte das paredes anterior e posterior, deixando apenas uma estreita faixa, que é irrigada pelos ramos gástricos da artéria gastro-omental esquerda. A artéria gástrica esquerda fornece toda a pequena curvatura até ao piloro e, através dele, os seus ramos terminais continuam na primeira parte do duodeno. Em consequência da extensão da artéria gástrica esquerda para o duodeno, a artéria gástrica direita está ausente na pequena curvatura, é muito pequena e acaba por irrigar o duodeno; no entanto, por vezes, fornece pequenos ramos à pequena curvatura.²⁰⁴

C. *Histologia do estômago da cobaia*

O conceito relativo à existência de dois tipos de mucosa gástrica, uma, não glandular, queratinizada, idêntica ao do revestimento esofágico (mucosa do proventrículo) e outra, glandular (mucosa cárdica, fúndica e pilórica), não correspondeu aos resultados das minhas observações. Suspeitei da incorreção da referida dualidade, ao verificar a constância morfológica da ultraestrutura arteriolar do plexo mucoso, nos espécimes de cobaia (*Cavia Porcellus*) que observei em microscopia eletrónica de varrimento. Confirmei que a mucosa gástrica apresenta um padrão glandular uniforme nesta espécie, através do estudo histológico, dirigido, dos vários setores da parede gástrica, em conjunto com o Dr. Mário de Oliveira, anatomopatologista do CHLC, EPE a quem recorri.

Resumo

Desenvolvi um protótipo alternativo ao humano para melhor compreender e refinar a operação de Nissen. Escolhi a cobaia (*Cavia Porcellus*) que possui anatomia vascular gástrica semelhante à humana. O padrão glandular uniforme da sua mucosa gástrica, que identifiquei, contribuiu para o seu reforço como modelo experimental.

Capítulo 6 – Elementos de Epidemiologia e Estatística

O impacto da estatística no desenho experimental

As experimentações com animais devem ser desenhadas e executadas de modo a que os resultados sejam tão informativos quanto possível.

Antes de realizar a experimentação ponderei o respetivo desenho experimental, assim como a quantidade de animais necessários, de modo a evitar, tanto a escassez, como o excesso do número de animais utilizados. A escassez retira potência de deteção dos efeitos biologicamente significativos, constitui perda de tempo e de recursos e conduz ao desnecessário sacrifício de animais.

Apesar do rigor da experimentação, surgem, por vezes, resultados ou determinações diferentes, devido à variabilidade individual animal, inultrapassável. A variação entre animais do mesmo grupo é causada por fatores que não são idênticos para todos eles. Tais fatores incluem o *status* genético e microbiano, percalços de desenvolvimento, influências ambientais e interações entre eles e com os procedimentos experimentais.

A análise estatística dos resultados é, habitualmente, necessária para explicar essa variabilidade. Idealmente, o processo de análise estatística deve ser realizado de acordo com uma especificação experimental, previamente definida, antes de a experimentação ter sido iniciada e que deverá incluir a magnitude mínima do efeito do tratamento considerado ser de interesse; a probabilidade de falhar a deteção de um efeito, se na realidade existir; ou seja, a probabilidade de se obter um resultado falso negativo; a probabilidade de se obter um resultado falso positivo, ou seja, pode não haver um efeito verdadeiro do tratamento, mas, por acaso, os meios usados serem de tal forma diferentes que parece havê-lo. Isto é especificado, em regra, como o nível de significância a ser aceite. Esta especificação, juntamente com os dados esperados da variabilidade entre indivíduos, torna possível estimar o número de animais necessários para detetar o efeito de um tratamento específico com uma baixa probabilidade de obter um resultado falso negativo ou falso positivo.

Tratando-se de um estudo angiomorfológico num órgão íntegro, sem que tenha ocorrido interferência direta com a microcirculação do fundo gástrico, dirigi a pesquisa para prospeção de variações de calibre arteriolar do cárdia, do fundo e da região dos vasos curtos gástricos.

Metodologia

*Determinação do tamanho da amostra, com equação matemática*²⁰⁵

As explanações abaixo referidas aplicam-se a experimentações constituídas por um grupo de controlo e por um grupo de ensaio, com o objetivo de detetar um efeito específico de tratamento, caso exista, com uma probabilidade pré-estabelecida (potência ou *power*). Os princípios aqui enunciados são válidos para todo o tipo de experiências.

Neste Projeto, a experimentação foi desenhada para investigar o efeito de um ato operatório, a laqueação dos vasos curtos gástricos e a funduplicatura total, no calibre das arteríolas do estômago proximal de cobaias. Num grupo de animais, o calibre seria medido após a laqueação dos vasos curtos gástricos (grupo de ensaio) e funduplicatura completa, e no outro grupo (grupo de controlo), de igual tamanho, sem a laqueação dos vasos curtos gástricos nem funduplicatura total. Quantos animais deveriam ser usados em cada grupo?

Antes de iniciar a experimentação defini os objetivos:

- 1) O nível de significância a usar (probabilidade de erro de tipo I), tipicamente, colocado em 5%.
- 2) A potência estatística requerida (probabilidade de erro de tipo II), muitas vezes colocada em 90%.
- 3) O efeito experimental mínimo (diferença média entre o grupo de controlo e o grupo de ensaio) considerado de interesse.

Em adição, especifiquei quer uma estimativa da variação antecipada (desvio padrão) entre as medições individuais referente à diferença entre o valor final e o inicial, quer o tipo de teste estatístico. A partir desta informação calculei o número de animais necessários em cada grupo do seguinte modo:

Admiti que se podia especificar um erro de tipo I de 5% e uma potência de 90% (ou seja, que a probabilidade de um erro de tipo II seria de 10%). O valor do efeito do tratamento cirúrgico sobre o plexo arteriolar mucoso, o plexo arteriolar submucoso e os vasos retos do cárdia, do fundo gástrico e da região dos vasos curtos, através da medição do calibre microvascular (a diferença, biologicamente significativa, entre o grupo de ensaio e o grupo de controlo) seria determinado com base em considerações anatómicas.

Se o grupo de ensaio apresentasse aumento de calibre de 10%, comparativamente, aos controlos, poderia significar um efeito secundário à laqueação dos vasos curtos gástricos e à funduplicatura total. O efeito mínimo a ser detetado seria de 10%. Nessa fase, o interesse não seria, primariamente, dirigido a estimar a magnitude do efeito verdadeiro; o objetivo seria apurar um efeito que fosse estatisticamente significativo.

Se, por sua vez, a diferença observada não fosse estatisticamente significativa, a conclusão seria de que um eventual efeito da laqueação era menor que 10%.

Deveria ser estimada a variação individual antecipada (desvio padrão, σ), que poderia ter sido obtida a partir de experiências prévias ou de elementos da literatura. Quando não possível, o σ pode ser estimado a partir de um estudo piloto com unidades experimentais suficientes. Estudos piloto são muitas vezes necessários, a fim de validar o protocolo experimental. Admiti que o σ dos grupos de controlo e de ensaio seria idêntico.

Quando o σ é conhecido, o tamanho n de cada grupo (supondo que é igual o número de indivíduos de ensaio e de controlo), com o teste de dois lados é dado pela fórmula:

$$N = 2 \left[\frac{(Z_{\alpha/2} - Z_{\pi})^2}{\frac{(\mu_1 - \mu_2)^2}{\sigma^2}} \right]$$

Para os testes de um lado, a equação é:

$$N = 2 \left[\frac{(Z_{\alpha} - Z_{\pi})^2}{\frac{(\mu_1 - \mu_2)^2}{\sigma^2}} \right]$$

Os valores de Z provêm da distribuição normal, dependendo do nível de significância escolhido e da potência. Os pontos Z corretos da distribuição normal padronizada são: $Z_{0,10} = 1,282$; $Z_{0,05} = 1,645$; $Z_{0,025} = 1,960$; $Z_{0,01} = 2,326$; $Z_{0,001} = 3,090$. O complemento do ponto Z direito é negativo; por isso, se $Z_{0,10} = 1,282$, então $Z_{0,90} = -1,282$, etc.

Não existindo efeito referencial comparativo de qualquer outro método (μ_2); considere que o efeito da laqueação dos vasos curtos gástricos e da funduplicatura total possuiria elevada probabilidade de ser estatisticamente significativo se o seu efeito de aumento do calibre arteriolar fosse 10% (μ_1). Supondo que numa experimentação semelhante o coeficiente de variação do aumento ($[\sigma/\mu] \times 100$) do calibre era de 14%. E, supondo que a probabilidade de um erro de tipo I era fixada em $\alpha = 5\%$ e a de um erro de tipo II em $\beta = 10\%$ para uma potência (π) de 90%, o tamanho do grupo pretendido foi calculado recorrendo à fórmula anterior e usando os valores seguintes:

$\alpha = 0,05$	$\pi = 0,9$	$Z_{\alpha} = 1,645$	$Z_{\pi} = 1,282$
-----------------	-------------	----------------------	-------------------

$$\frac{(\mu_1 - \mu_2)}{\sigma} = \frac{(10 - 0)}{14}$$

$$N = 2 \left[\frac{(1,645 + 1,282)^2}{(10/14)^2} \right] = 33,6$$

Isto é, n=34 por grupo

Notar que os dados são apresentados em termos da percentagem de aumento do calibre arteriolar, e o coeficiente de variação, em vez do aumento numérico real e desvio padrão. No entanto, teria sido obtido o mesmo resultado se tivessem sido utilizados valores reais. Abreviando, de acordo com os cálculos efetuados, o número de animais previsto ser usado no Projeto seria de sessenta e oito.

Em maio de 2012, o meu calendário académico foi alterado encurtando em cerca de dois anos o prazo disponível para conclusão do estudo.

Apreciando o Projeto com o Gabinete de Análise Epidemiológica e Estatística do Centro de Investigação do CHLC, EPE, concluiu-se não ser considerado exequível obter em tempo útil uma amostra de cobaias da dimensão estimada (34 por grupo), acrescida de compensação para perdas estimadas por falecimento durante a intervenção ou antes

de 8 dias de pós-operatório, e por falhas no processamento das peças anatómicas (por exemplo, injeção-corrosão).

Perante a escassez de elementos após terem sido recrutadas 46 cobaias, optou-se, então, por uma amostra de dimensão de conveniência de oito cobaias (quatro em cada grupo), condicionada pelo referido limite temporal universitário e pelo respeito pela dignidade dos animais.

Dada a elevada variabilidade do calibre arteriolar, para obter maior potência apenas com oito cobaias, foi decidida a recolha completa de dados anatómicos por microscopia eletrónica de varrimento efetuando oito medições do calibre das arteríolas em cada segmento do território vascular estudado: plexo mucoso, plexo submucoso e vasos retos (base, topo e ramos) no cárdia, no fundo e na região dos vasos curtos gástricos.

Análise estatística

Foi efetuada análise exploratória de todas as variáveis em estudo. As características da distribuição das medições do calibre arteriolar em cada segmento da parede gástrica foram verificadas através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Verificado que os dados não se ajustavam à distribuição normal, os calibres arteriulares foram descritos pela mediana, mínimo e máximo.

Tratando-se de medições relacionadas e repetidas, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) a dois fatores, de modo a comparar os calibres arteriulares em cada segmento vascular e região, entre GC e GE. O reduzido número de indivíduos estudados (oito) inviabilizou a aplicação efetiva da análise estatística com medidas repetidas, ao ser introduzida a variável “cobaia” como fator aleatório. Optou-se então por não considerar o fator aleatório individual e apenas a relação anatómica entre variáveis.

O nível de significância considerado foi $\alpha = 0,05$. A análise de dados foi efetuada, através do *software Statistical Package for the Social Science for Windows* versão 16.0 (SPSS Inc, Chicago IL), pelo Gabinete de Análise Epidemiológica e Estatística do Centro de Investigação do CHLC, EPE.

Resumo

Ao iniciar o Projeto ponderei o número de animais necessários, 68 (34 por grupo, GE e GC), definindo o nível de significância, a potência estatística e o efeito experimental mínimo. Por imperativo académico e ante a escassez de elementos, após terem sido recrutadas 46 cobaias, estipulei, uma amostra de dimensão de conveniência de oito cobaias (4 por grupo) para recolha completa de dados anatómicos, por microscopia eletrónica de varrimento, com realização de oito medições de calibre das arteríolas em cada segmento do território vascular a estudar. Tratando-se de medições relacionadas e repetidas, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) a dois fatores, para comparar os calibres arteriulares em cada segmento vascular e região entre GC e GE, pelo Gabinete de Análise Epidemiológica e Estatística do Centro de Investigação do CHLC, EPE.

Capítulo 7 – Bem-Estar Animal

A. Biologia e manejo das cobaias

Origem e utilização

A cobaia *Cavia Porcellus* é um animal da classe *Mammalia*, ordem *Rodentia*, subordem *Hytricomorpha*, família *Cavidae*, género *Cavia* e espécie *Porcellus*, originário dos Andes e encontrado em vários países da América do Sul. O tipo selvagem (*Cavia cutleri*) foi domesticado pelos índios para produção de carne. No século dezasseis, os espanhóis introduziram a cobaia na Europa. Dos três tipos de pelo (curto ou inglês, eriçado ou abissínio e longo ou peruano, a variedade curto é a que, quase exclusivamente, se usa em pesquisa biomédica, representando, aproximadamente, 2% a 3% dos registos de animais de laboratório. O objetivo primordial para utilização de cobaias é a produção e o controlo de soros, vacinas e outros produtos biológicos. A cobaia tolera repetidas punções cardíacas para colheita de sangue e para administração de fármacos. Embora não possuindo boas veias para injeção de substâncias, é excelente para fornecimento de órgãos e tecidos, para preparações *in vitro*. Apresenta um padrão eletrocardiográfico muito semelhante ao do homem.²⁰⁶ O número de estirpes consanguíneas, *inbred*, existente é limitado. A maior parte dos trabalhos de investigação é realizada em estirpes *outbred*, tendo-se muitas originado da linha Dunking-Hartley, em 1926.²⁰⁷

Características e reprodução

A frequência cardíaca é de 130 a 190 por minuto e a frequência respiratória de 90 a 150 por minuto. A pressão arterial sistólica é de 77 a 120 mm Hg e a diastólica de 47 a 55 mm Hg. Os brônquios da cobaia são muito sensíveis à histamina, que, mesmo em doses muito baixas, desencadeia broncoespasmo mortal.

O tubo digestivo é característico de um herbívoro, apresentando um intestino com um comprimento de 8 a 10 vezes o comprimento do corpo do animal, sendo o cego e o cólon muito desenvolvidos.²⁰⁸ A fêmea possui duas mamas inguinais. Uma membrana reveste o orifício vaginal, abrindo durante a ovulação. A cobaia atinge a puberdade por volta dos 70 dias para o macho e entre os 28 e 35 dias para a fêmea. Nesta espécie, o ciclo menstrual tem a duração de 14 a 19 dias. O período de gestação é de 59 a 72 dias. Em cada ninhada encontram-se entre 3 a 6 crias (4 em média).

Ao nascer, o peso da cria oscila entre 60 e 100 g, dependendo do número de crias e do estado nutricional da mãe. Quando nascem, as crias têm pelos, dentes, olhos abertos e são amamentadas 15 a 20 vezes por dia, podendo começar a ingerir comida sólida a partir do 5º dia. Para identificação do sexo do animal, exerce-se pressão suave na região genital para evidenciar a estrutura existente.²⁰⁹

Maturidade sexual	55 a 90 dias	Início da alimentação sólida	1 a 5 dias
Período de gestação	59 a 72 dias	Vida útil da fêmea	2 a 4 anos
Ciclo menstrual	14 a 19 dias	Vida útil do macho	4 anos
Duração do cio	6 a 11 dias	Frequência respiratória/min	90 a 150
Retorno do cio pós-parto	6 a 8 dias	Frequência cardíaca/min	130 a 190
Época de acasalamento	todo o ano	Pressão arterial média	81 a 90
Peso ao nascer	60 a 100 g	Temperatura corporal	38,5° C
Peso em adulto	500 a 600 g	Leucócitos/mm ³	10.000
Peso máximo	1,5 kg	Hemácias, milhões/mm ³	4,5 a 7
Tamanho em adulto	25 a 30 cm	Hematócrito	42%
Número de crias / ninhada	Média 3 a 6	Hemoglobina	12,3
Idade de desmame	14 a 20 dias		

Tabela 31 – Características da cobaia

Aspetos gerais e manutenção

A cobaia é um animal tímido, dócil, relativamente barulhento, pouco dispendioso, de fácil criação e manutenção em cativeiro. Tem uma longevidade que varia entre dois e seis anos. A temperatura corporal média (retal) oscila entre 39° e 40° C. Peso ao nascer: 75 a 100 g. O animal adulto pesa entre 600 e 1300 g e mede cerca de 30 cm de comprimento. A identificação das cobaias deve ser feita por métodos permanentes, opcionalmente eletrônicos. Sendo animais sociais, as cobaias devem, preferencialmente, ser alojadas em grupo, em baias ou em gaiolas grandes. Raramente são agressivas entre si; somente, há lutas quando se juntam machos adultos estranhos.²¹⁰

As condições de manutenção da cobaia compreendem: temperatura ambiente entre 20° e 24° C, humidade relativa de 55 a 65%, duração de cada ciclo de luz/escuro com 14 horas/10 horas, ventilação da ordem dos 4 a 6 volumes/hora, consoante o número de animais na sala. Por ser um importante fator de *stress*, o ruído deve ser o menor possível.²¹¹

Fisiologia, nutrição e comportamento

A cobaia é estritamente herbívora, possuindo molares inclinados, transversalmente, e movimentos mandibulares da frente para trás. Os incisivos e os molares crescem continuamente. Os animais mantêm-se ativos cerca de 20 horas por dia, não existindo ritmo circadiano definido. Os períodos de atividade alternam com períodos de sono de 10 minutos.

O consumo alimentar é da ordem dos 25 a 30 g, para os adultos com peso até 600 g, e de 35 a 50 g, para os que possuem peso superior a 600 g. Relva, na primavera e no verão, sem produtos químicos e pesticidas. Feno, sempre à disposição, de trevo e dente de leão. Feno de alfafa só em jovens e até aos 6 meses. Nos adultos, alfafa com moderação; não dar, regularmente, pelo conteúdo rico em cálcio. Ervas frescas: dente de leão, cavalinha, relva, alfafa com moderação. Fruta e vegetais, cortados em pequenos pedaços, e postos à disposição em recipiente plástico, no máximo durante duas horas, retirando o que sobrar. Cem gramas de legumes (Tabela 32) por dia.²¹²

Legumes			Frutas	
Ricos vitamina C	Outros	1 a 2 vezes / semana	Vitamina C	Outras
Pimento vermelho	Pepino	Couve-flor com folhas	Kiwi	Banana
Tomate	Alface (exceto iceberg)	Couve-de-Bruxelas	Laranja	Maçã
Espinafres (moderação)	Beterraba	Cenoura	Clementina	Pêra
Espargos	Courgette		Tangerina	Pêssego
Ervilhas	Nabo		Morango	Framboesa
Rabanete	Endívias			Cereja
Couve (moderação)	Bróculos (moderação)			Melão
Feijão verde				Melancia

Tabela 32 – Alimentação e manejo da cobaia

Ração em pouca quantidade. Sementes ou cereais em pouca quantidade: aveia, trigo, linho, girassol, cevada. Guloseimas uma vez por semana: pão rijo integral, barritas, flocos de aveia sem açúcar. Alimentos proibidos: cogumelos, aipo, cebola, batata, abacate, leguminosas, carne, leite e derivados, doces e chocolate.

Água sempre á disposição e mudada diariamente, variando o consumo entre 50 e 100 ml/dia. A água para cobaias deve ser enriquecida com vitamina C (25 g/l). Em alternativa, suplemento diário de vitamina C, via oral, 20 microgramas, dada diretamente na boca.

O estômago apresenta um fundo desenvolvido que está sempre cheio, sendo, por isso, muito difícil colocar o animal em jejum, devido ao cecotrofismo (ingestão das fezes moles, que têm uma digestibilidade equivalente à da carne). As cobaias comem as próprias fezes (coprofagia) que retiram diretamente do ânus. O animal dobra-se sobre ele mesmo e, na posição de sentado, leva o focinho ao ânus para apanhar estas fezes especiais. Tal comportamento verifica-se 150 a 200 vezes por dia. As cobaias muito jovens ingerem os excrementos maternos.²¹³

Esta prática alimentar, pela qual o conteúdo do cego é reciclado, tem três razões principais:

- a manutenção da flora bacteriana intestinal estável, para assegurar as fermentações (a reingestão dos elementos do trato digestivo distal permite a sua digestão e lise ao nível do intestino anterior);
- a absorção dos nutrientes, sintetizados pelos microorganismos do cego, que não é, diretamente, realizada: proteínas e, sobretudo, vitaminas do grupo B (especialmente, a vitamina B12) e a vitamina K, ficando, assim, as necessidades vitamínicas B, totalmente, asseguradas, além do aporte alimentar;
- um complemento da digestão da celulose, que se traduz na otimização do rendimento digestivo.

A coprofagia é obrigatória, ou porque as reservas vitamínicas da cobaia são mínimas, ou porque as suas necessidades em vitaminas são consequentes. Se tal prática for impedida, são induzidas alterações substanciais na eficácia da digestão, provocando a morte da cobaia, em *stress*, nos dez dias seguintes.

Abreviando, a cobaia tira bom partido do seu regime alimentar à base de fibras celulósicas. O seu sistema digestivo contém duas particularidades notáveis, uma

anatômica, pela existência de um cego volumoso que se comporta como uma enorme cuba de fermentação pela micropopulação residente, e outra fisiológica, pela adoção de um comportamento alimentar original, a coprofagia.

As cobaias são muito sensíveis aos antibióticos. Os antibióticos contra bactérias *gram* positivas, como a penicilina e a eritromicina, podem ser particularmente fatais. Não são afetados pelos corticosteroides mas, a histamina pode provocar constrição letal do tecido muscular liso bronquiolar.

Alojamento no biotério do Departamento

No biotério as cobaias estiveram alojadas em gaiolas MAC IV, com área de 1800 cm², em grupos de duas. O controlo ambiental incluiu temperatura da sala de 24°C, humidade 45% a 65%, ciclo de luminosidade dia/noite de 12 horas, enriquecimento da gaiola com resguardo, limpeza e manutenção das instalações diária, com eliminação dos dejetos por água corrente. O bem-estar dos animais, nos seus múltiplos aspetos, foi assegurado pelo pessoal técnico do Centro de Investigação do Departamento de Anatomia, tendo as cobaias sido alimentadas com água filtrada *ad libitum*, feno de trevo *ad libitum*, ervas frescas (dente de leão), legumes ricos em ácido ascórbico (100 g/dia) e suplemento diário de vitamina C (20 microgramas, diretamente, na boca).

Vias de administração terapêutica

As vias de administração na cobaia compreendem a oral e a parentérica, incluindo esta os acessos intraperitoneal, intramuscular, subcutâneo (pele sobre o pescoço), intradérmico e endovenoso. A administração de soluções por via intraperitoneal possibilita a administração de volumes até 2,5 ml, enquanto por via intramuscular, o volume não deve ultrapassar os 0,5 ml. A via subcutânea permite a administração de volumes até 5 ml, a intradérmica, a administração de 0,1 ml, e a endovenosa, a administração de volumes até 1 ml.

Adaptação ao bloco operatório e pós-operatório

Para profilaxia do *stress* relacionado com o acesso à sala de operações, proporcionou-se, adaptação das cobaias ao ambiente do bloco operatório do Departamento mediante a permanência nas instalações, cerca de duas horas por dia, durante dois dias consecutivos, seguida de regresso ao biotério.

O recobro anestésico decorreu nas instalações do bloco operatório, com vigilância dos sinais vitais durante três horas e administração de anti-inflamatório – ibuprofeno 0,7 mg, via oral. Não tendo regressado ao biotério, os animais foram transferidos para sala própria, com condições ambientais sobreponíveis às descritas anteriormente, onde realizaram o pós-operatório, mantendo a analgesia com butorfanol, 1 mg/kg, via IM; ibuprofeno, 0,7 mg, via oral, e a pesquisa diária de sinais de desconforto comportamental e fisiológico.

Capítulo 8 – Técnicas de Anestesia em Roedores

Introdução

Os roedores são, de longe, os animais mais utilizados em experimentação (acima de 80%). No entanto, o seu pequeno porte faz com que a administração de substâncias por via intravenosa seja mais difícil. Por isso, durante muito tempo, os métodos de anestesia mais utilizados foram ou a anestesia por éter, em câmaras de vidro, ou a anestesia pelo fenobarbital, por via intraperitoneal. Progressivamente, têm sido desenvolvidos protocolos anestésicos cada vez mais refinados.²¹⁴

A. Reconhecimento da dor (nociceção) nos animais

A dor é uma sensação ou experiência emocional subjetiva, desagradável, associada com alterações reais ou potenciais dos tecidos. Nos animais, a dor é nociceção (termo mais correto). A dor pós-operatória pode ser aliviada pela administração de analgésicos. Tem sido progressivo o alerta da Sociedade para o facto de os animais sentirem dor. Estabelecer a presença de dor nos animais, que não podem comunicar, verbalmente, conosco, é difícil. No entanto, comparando a estrutura e a função do sistema nervoso central entre os animais e o homem, compreende-se que os mecanismos necessários à sensação de nociceção estão presentes nos animais. Por outro lado, os analgésicos modificam as respostas dos animais aos procedimentos que se sabe serem dolorosos no homem. Pelo princípio da analogia, sempre que um estímulo é doloroso no ser humano, é doloroso no animal. Neste contexto, a vocalização, as alterações comportamentais e as reações com movimentos violentos são consideradas expressões do sistema nervoso autónomo. Muitos dos animais de laboratório são, predominantemente, noturnos e o investigador nem sempre se apercebe dos indícios de dor, que é mais escondida pelo macho e menos valorizada nos animais jovens.²¹⁵

Aspetos negativos da nociceção

Atraso da cicatrização devido ao *stress* (corticoesteroides); equilíbrio energético negativo e suas consequências fisiológicas, devido ao maior consumo de energia e à menor ingestão de alimentos; recuperação anestésica mais lenta e maior probabilidade de complicações pós-operatórias; respiração menos eficiente; maior risco de automutilação; se a dor se prolongar, pode tornar-se crónica e de mais difícil controlo; o *stress* prolongado reduz os mecanismos de resistência à infeção e aumenta o risco de complicações.

Fisiopatologia da dor

Estão identificadas a dor fisiológica do traumatismo, a dor patológica da ferida, por destruição dos tecidos e a dor neuropática, por compressão de nervos, mais difícil de controlar por analgésicos.

Tipos de recetores periféricos, nociceptores ou terminais das fibras: fibras A β – recetores de estímulos tácteis (limiar baixo – estímulos de baixa intensidade); fibras A δ – recetores mecânicos e térmicos; e fibras C – recetores térmicos intensos, químicos (limiar alto – estímulos de intensidade elevada). Quando, na sequência de um

traumatismo, se esfrega a zona atingida, estão-se a estimular as fibras A β , e através destas, a medula, que tem capacidade para inibir o estímulo doloroso. A interpretação da dor ocorre nos centros cerebrais constituídos por substância cinzenta do corno dorsal; vias ascendentes da substância branca: espinal-talâmicas, espinal-cervicais, espinal-mesencefálicas e centros superiores: formação reticular, tálamo e cérebro.

Se o estímulo for fraco, são estimuladas fibras A β , mas se for forte, são estimuladas as fibras A δ e as fibras C. Quando há ferida, ocorre a lesão dos tecidos (morte celular), resposta inflamatória e libertação de mediadores (aminas vasoativas, células inflamatórias, neuropéptidos e mediadores químicos). Estes formam um caldo inflamatório que provoca transdução da sensibilidade, fazendo com que os recetores A β da ferida passem a interpretar o estímulo como doloroso. É o processo da sensibilização periférica que contribui para a dor patológica. Um estímulo doloroso contínuo atua sobre os recetores específicos das fibras A δ e das fibras C, provocando ampla variação dinâmica e os centros passam a responder com dor. É um fenómeno de sensibilização central com aumento e dispersão do estímulo aos tecidos saudáveis limítrofes, ampliando a sensação de dor.

Avaliação das alterações de comportamento dos roedores, induzidas pela dor

É necessário fazer registos da dor, podendo as alterações fisiológicas estar associadas a alterações comportamentais, que, em conjunto, ajudam a compreender a ocorrência de dor. Existem escalas de alterações comportamentais, as mais simples das quais têm 5 graus, existindo outras mais complexas. Numa escala de 0 a 100, os seres humanos apenas discernem 14 graus, sendo que as crianças apenas discernem 6, o que, nitidamente, evidencia a dificuldade de avaliação da dor no animal.

Os sinais óbvios de dor nos roedores são raros, sendo indicadores o decréscimo no consumo de alimentos e de água, a diminuição da atividade pós-operatória e a imobilização – difícil de objetivar nos roedores, dada a sua atividade noturna –. Os movimentos de contorção (se a dor abdominal for intensa); a emissão de sons audíveis (grunhidos); o deixar de fazer a higiene normal; a cromadocrioreia – cor castanha (porfíria) à volta dos olhos, que traduz dor crónica –. Os coelhos com dor abdominal apresentam músculos tensos, encolher do ventre e ranger de dentes.

B. Planeamento anestésico

A escolha do protocolo de anestesia é o aspeto mais importante do planeamento pré-anestésico. A opção depende da espécie, raça, peso corporal e comorbilidades; do que se pretende realizar; dos parâmetros que se pretendem medir; da experiência em anestesia; do tipo de anestesia e do material necessário. É útil procurar quem ajude na elaboração de um protocolo, que inclua a escolha do material necessário: saco de água quente envolvido num pano (os roedores perdem calor de forma exponencial, acabando por entrar em choque); dispor sempre, de fármacos de emergência – atropina e cálcio; vigilância do comportamento, devendo os animais estar ambientados à sala onde irá decorrer a cirurgia, para que não haja *stress* pela mudança de ambiente (15 dias de adaptação); controlo diário do peso e do consumo de água; observação do estado de saúde do roedor; o jejum pré-operatório prolongado, essencial em algumas espécies, é

desnecessário nos coelhos e nos roedores, recomendando-se que nestes seja de 4 a 6 horas, para profilaxia do vômito.

A intubação endotraqueal pode realizar-se recorrendo a laringoscópio, otoscópio (rato, hamster, cobaia), técnica cega, tubo endotraqueal e dispositivo supraglótico.

Pré-medicação anestésica

Antes da anestesia é conveniente proceder à pré-medicação anestésica. A pré-anestesia visa reduzir os eventuais efeitos secundários dos anestésicos, reduzir o *stress* durante a indução e assegurar uma recuperação suave da anestesia. Com ela, o animal fica com menos *stress*, ao ficar indiferente ao ambiente.

A medicação pré-anestésica inclui: um anticolinérgico (a atropina) para reduzir as secreções respiratórias e para bloquear o sistema nervoso autónomo, reduzindo os reflexos induzidos pelos fármacos e pela manipulação visceral, a qual pode estimular o parasimpático; um sedativo/tranquilizante para reduzir o *stress*, ficando o animal mais calmo; e, ainda, um analgésico, para que haja controlo da dor no pré-, no intra- e no pós-operatório.

Conceito de analgesia

Devem ser administrados analgésicos antes e depois do estímulo, recorrendo, sempre, a dois ou mais fármacos, para que o mecanismo da dor seja cortado nos vários níveis: periférico, corno medular e SNC. Os fármacos usados como analgésicos incluem opioides, anestésicos locais, anti-inflamatórios não esteroides, agonistas dos recetores α_2 e agentes dissociativos.

Opioides

Os opioides derivam da manipulação dos opiáceos e atuam ao nível do corno dorsal da medula, no SNC e na periferia dos locais de inflamação onde existe o *caldo inflamatório*. A ação farmacológica dos opioides inclui analgesia, sedação, excitação (no cão e no cavalo), depressão respiratória (porque o centro respiratório fica menos sensível ao CO_2), efeitos cardiovasculares, efeitos gastrintestinais e depressão do reflexo nauseoso (*gag reflex*). São agonistas a morfina, a petidina, o fentanil, a oximorfina e a metadona. É agonista parcial a buprenorfina. São agonistas/antagonistas o butorfanol, a pentazocina e a nalbufina.

Anestésicos locais

Os anestésicos locais afetam, apenas, uma parte específica do corpo, sendo que o animal mantém a consciência. A vantagem do uso de anestésico local nos animais decorre do fato de não haver perda da consciência, ficando abolida a sensibilidade numa região específica do corpo do animal. A desvantagem relaciona-se com a irrequietude, que limita o seu uso. Pode associar-se um anestésico local com um sedativo ou com um tranquilizante.

Os anestésicos locais podem ser aplicados de várias maneiras para conseguir diferentes graus de anestesia local/regional, sob a forma de anestesia de superfície – aplicação direta de anestésico local, gel ou *spray*, sobre as mucosas; infiltração local, que permite dessensibilizar planos teciduais profundos, injetando anestésico local nos tecidos; bloqueio específico de um nervo, mediante o qual, infiltrando em volta de um nervo se pode dessensibilizar a área por ele enervada; anestesia regional, em que há infiltração perto da espinal medula ou no plexo que enerva os membros. Na anestesia espinal, o fármaco é injetado intratecal, no fluido cérebrospinal. Na anestesia epidural, o fármaco é colocado no espaço epidural, antes da duramater. Com a dosagem correta, as anestésias espinal e a epidural possibilitam a cirurgia na porção caudal do organismo.

Os anestésicos locais mais, amplamente, utilizados são a procaína, a lidocaína, a bupivacaína, e a prilocaína. Fazem com que as membranas celulares fiquem hiperpolarizadas, não ocorrendo transmissão do estímulo doloroso, e bloqueiam o fluxo de sódio através dos canais da membrana das células nervosas. A lidocaína em *spray* é rápida a atuar – cerca de dez minutos –, mas o efeito é fugaz, limitado a duas horas. A bupivacaína persiste mais tempo. Por vezes, associa-se um anestésico local com a epinefrina ou a norepinefrina, com o objetivo de provocar vasoconstrição local e, assim, prolongar o efeito anestésico. Porém, estes fármacos podem originar problemas cardíacos nos roedores.

Anti-inflamatórios não esteroides

Os anti-inflamatórios não esteroides – ácido acetilsalicílico fenilbutazona, flunixin, cetoprofeno, vedoprofeno, meloxicam, carprofeno – bloqueiam a síntese das prostaglandinas por inibição da enzima cyclo-oxigenase. O meloxicam é seguro e não causa problemas na cobaia.

Agentes dissociativos

Os agentes dissociativos incluem os antagonistas dos recetores NMDA (*N-metil D-Aspartato*), tal como a quetamina. O NMDA é um aminoácido excitatório agonista do neurotransmissor, também aminoácido, glutamato. O recetor NMDA – NMDAR – é um recetor ionotrópico ativado pelo ácido glutâmico (glutamatérgico). A ativação dos recetores de glutamato resulta na abertura de um canal iónico, não seletivo, para os cations. Isso permite o fluxo de Na^+ e de pequenas quantidades de Ca^{2+} para dentro da célula e de K^+ para fora da célula.

Benzodiazepinas

As benzodiazepinas são fármacos que não têm efeito analgésico. São sedativos que induzem relaxamento muscular, potenciam a ação dos analgésicos e dão sensação de bem-estar porque reduzem o estado ansiolítico.

Anestésicos gerais

A anestesia geral é uma intoxicação controlada, reversível, com supressão dos estímulos dolorosos pelo sistema nervoso central. Os anestésicos gerais fazem perder a consciência. Não existe o anestésico geral ideal. Ao não existir, não é possível

extrapolar entre espécies animais. O anestésico deve ser escolhido consoante a espécie, a raça, o peso corporal e as comorbilidades.

A anestesia geral faz com que exista hipnose (perda da consciência), analgesia (perda da sensibilidade), relaxamento muscular e supressão da atividade reflexa (estabilização autonómica), não o fazendo, porém, de modo homogéneo. Os barbitúricos dão hipnose rápida, mas a sensibilidade à dor mantém-se. A quetamina, sendo um bom analgésico, é mau relaxante muscular. Daí a noção de anestesia balanceada, que consiste na administração de vários fármacos, com efeitos seletivos e, graus de supressão, adaptados às necessidades específicas de uma experimentação. Quando se utiliza um regime anestésico balanceado, a dose de cada fármaco pode ser relativamente baixa, reduzindo-se o perigo de *overdose* e de efeitos colaterais indesejáveis.

Os parâmetros a controlar na anestesia geral incluem a frequência respiratória, a frequência cardíaca, a saturação arterial de oxigénio, os reflexos – palpebral, podal, deglutição, beliscar da cauda e da orelha, controlo pupilar –, a temperatura. A monitorização anestésica é realizável através de eletrocardiograma, pressão venosa central, pressão arterial, pressão arterial pulmonar, capnografia (concentração do CO² expirado), gasometria, oximetria - saturação arterial de O², espirometria (volume corrente ou minuto) e eletroencefalograma.

Anestésicos gerais voláteis (inaláveis)

Isoflurano, halotano, metoxiflurano, enflurano, sevoflurano, desflurano, éter e protóxido de azoto são gases anestésicos inaláveis. A existência de um aparelho para eliminação controlada dos gases anestésicos voláteis do ambiente é importante devido aos efeitos teratogénico e sobre o aparelho respiratório.

O éter foi largamente utilizado durante muito tempo, estando hoje, praticamente, abandonado, quer pelo seu carácter inflamável, logo perigoso, quer pela qualidade medíocre de anestesia que proporciona, a que se associam efeitos irritantes sobre o aparelho respiratório.

O protóxido de azoto com oxigénio, na proporção de 50/50, induz anestesia de curta duração, que tem aplicação, por exemplo, na colheita de sangue do *sinus* retro-orbitário.

Com o halotano, a anestesia é realizada usando uma câmara de indução e um aparelho de anestesia que liberta a mistura através de uma máscara adequada. O halotano exerce um efeito de ativação enzimática mas, apenas, se a aplicação for superior a 30/60 minutos, de resto, tem ação hepatotóxica. O halotano é um bom anestésico na cobaia, animal tradicionalmente difícil de anestésiar. O metoxiflurano, pode ser usado em substituição do éter em dispositivos pouco dispendiosos (câmara de vidro ou vaporizador). O isoflurano é o anestésico volátil, recentemente, introduzido em Medicina Veterinária; não é metabolizado no organismo e possui maior segurança de emprego que o halotano.

Anestésicos gerais injetáveis

Barbitúricos (tiopental, metohexitona, pentobarbital); agentes dissociativos (quetamina, tiletamina – zolazepan); neuroanaleptoanalgésicos; anestésicos esteroides (alfaxalona,

alfadolona); fármacos $\alpha 2$ adrenérgicos (medetomidina, xilasina) e propofol integram este grupo de fármacos.

Dos barbitúricos, o mais usado é o pentobarbital, geralmente, administrado por via intraperitoneal (IP), sendo a dose recomendada de 30 a 40 mg/kg, quando por via intravenosa (IV). Em ratos, a dose recomendada para anestesia via IP é de 40 a 70 mg/kg. No camundongo há grande variação da sensibilidade a este anestésico, consoante a linhagem.

Nos roedores, a anestesia induzida pelo pentobarbital, que não possui propriedades analgésicas, é insuficiente para intervenções cirúrgicas pesadas, situações em que é conveniente prever um complemento analgésico.

A quetamina é dissociativa, e quando usada, isoladamente, em roedores, produz rigidez muscular e anestesia insuficiente para uma intervenção cirúrgica. Contudo, a quetamina pode ser associada, de modo eficaz, à acepromazina, ao diazepam, ou a um $\alpha 2$ adrenérgico, como a xilazina ou a medetomidina.

A associação quetamina e xilasina pode, por exemplo, ser administrada no rato, via intramuscular (IM) ou IP. Provoca uma boa sedação, com indução rápida e duração de 90 a 120 minutos. Esta associação pode, igualmente, ser usada no camundongo e na cobaia. A associação quetamina 40 mg/kg e medetomidina 1mg/kg via IP provoca boa sedação, com indução rápida. Uma vantagem desta associação é a possibilidade de se poder antagonizar os seus efeitos pela administração de atipamezole, permitindo que os animais acordem, rapidamente, sendo os efeitos secundários limitados.

A tiletamina associada ao zolazepam pode usar-se em roedores. Nos ratos, a dose é de 20 a 40 mg/kg IP, sendo a analgesia variável; os reflexos, habitualmente, avaliados não desaparecem e é difícil avaliar a profundidade da anestesia. No camundongo, a dose de 80 mg/kg dá sedação, mas má analgesia.

Na cobaia, Radde (1996)²¹⁶, efetuando um estudo comparativo da anestesia produzida por tiletamina-zolazepam, pentobarbital, metoxiflurano, quetamina-xilasina e quetamina-xilasina mais metoxiflurano, concluiu que a associação quetamina e xilasina fornece analgesia e sedação suficientes para procedimentos, medianamente, dolorosos; a adição de metoxiflurano potencia, por sua vez, a anestesia e a analgesia.

O propofol induz uma anestesia rápida, de boa qualidade, que pode ser prolongada por perfusão a débito constante. O inconveniente deste anestésico é a necessidade de indução por via IV, que provoca *stress* no rato. Brammer (1992)²¹⁷ contornou este obstáculo através da administração prévia de fentanil-fluanisona, via IP (0,5 a 1 mg/kg). O propofol, na dose de 0,1 mg, em *bolus*, pode, então, induzir a anestesia que poderá ser mantida com uma perfusão (4 a 6 mg/kg/hora).

C. Exemplos de protocolos anestésicos – Anestesia de coelhos

Os coelhos são considerados os animais mais difíceis de anestésiar. As justificações incluem grandes variações individuais de resposta aos anestésicos, grande sensibilidade a depressores respiratórios e dificuldade de entubação traqueal. O uso de anestésicos voláteis – halotano ou isoflurano – em coelhos é de longe a melhor opção de anestesia

para cirurgia pesada. No entanto, deve primeiro induzir-se a anestesia e, de preferência, os animais serem entubados. Flecknell (1996)²¹⁸ estudou os efeitos da indução da anestesia com halotano ou isoflurano, tanto por máscara, como por anestesia em recinto, tendo concluído que todos os animais apresentam fases de apneia (30-120s), associada a bradicárdia acentuada, o que aumenta o risco de mortalidade relacionada com a anestesia. Todos os animais tentam evitar inalar o gás, o que sugere que é um estímulo eversivo.

Dos anestésicos injetáveis, o pentobarbital pode ser usado por via IV em coelhos (25-60 mg/kg). Além dos inconvenientes já citados para roedores, a dose necessária para anestesia de coelhos é semelhante à dose que causa apneia. É, portanto, indispensável encontrar o ritmo certo de administração (1/3 da dose injetada e, em seguida, lentamente, por exemplo) e, quando apropriado, para estimular a prática de manobras de ventilação. A quetamina não proporciona relaxamento muscular nem analgesia suficientes e, por isso, é, geralmente, usada em combinação com xilazina – 22 a 50 mg/kg de quetamina; 2,5 a 10 mg/kg de xilazina –, combinação essa que permite entubação e pode ser suficiente para pequenos procedimentos cirúrgicos. A quetamina também pode ser associada com medetomidina.

Para Aeschbacher e Webb (1993)²¹⁹, que estudaram a indução da anestesia com propofol, o sinal característico da perda de consciência escolhido foi a ausência de mastigação durante a introdução na boca de um tubo endotraqueal. A indução foi obtida com uma dose (ED95) de 8,45 mg/kg, com um débito de injeção de 20 mg/kg/minuto. Eles recomendam utilizar uma dose de indução de 5 a 14 mg/kg, para maior segurança, podendo ocorrer depressão respiratória somente em doses muito mais elevadas. Na ausência de nova administração, o recobro é rápido e silencioso.

Hellebrekers (2001)²²⁰ associou propofol (3mg/kg IV) e medetomidina (0,35 mg/kg IM), obtendo uma anestesia de boa qualidade para procedimentos cirúrgicos, sem depressão respiratória e comparou estes resultados com a combinação de medetomidina (0,35 mg/kg IM) e quetamina (5mg/kg), a qual dá maior e melhor anestesia mas, torna necessário o aporte de oxigênio para evitar a hipóxia.

Resumo

A dor ou nocicepção é uma sensação ou experiência emocional subjetiva, desagradável, associada com alterações reais ou potenciais dos tecidos. A pré-anestesia visa reduzir os eventuais efeitos secundários dos anestésicos, atenuar o *stress* durante a indução e assegurar uma recuperação suave da anestesia. Devem ser administrados analgésicos antes e depois do estímulo, recorrendo, sempre, a dois ou mais fármacos, para que o mecanismo da dor seja cortado nos níveis periférico, medular e SNC. A anestesia geral é uma intoxicação controlada que faz perder a consciência, reversível, com supressão dos estímulos dolorosos pelo sistema nervoso central; a sua forma balanceada consiste na administração de vários fármacos, com efeitos seletivos e com graus de supressão adaptados às necessidades específicas de uma experimentação. É importante, no contexto experimental com anestesia, definir os objetivos, para evitar interferências em função da espécie e da linhagem dos animais utilizados. É necessária atenção aos procedimentos e aos animais selecionados para garantir a realidade da proteção animal e a qualidade do estudo.

Capítulo 9 – Protocolos do Projeto

A. Protocolo de anestesia e analgesia

- *Posologias transcritas de tabelas de referência*

Dieta pré-operatória

Foi fornecida dieta hídrica às cobaias, duas a quatro horas antes da cirurgia, no pressuposto de que, por um lado, um volume significativo de conteúdo gástrico pode provocar variação no efeito da dose anestésica e que, por outro, a hipoglicemia tem maior probabilidade de, rapidamente, originar paragem cardíaca ou respiratória e consequente isquemia cerebral.

Pesagem pré-operatória

A pesagem pré-operatória foi realizada, com precisão, para evitar a sobredosagem anestésica. Simultaneamente, constituiu uma avaliação referência para cotejar com pesagens pós-operatórias.

Pré-anestesia

A pré-anestesia foi administrada trinta minutos antes da indução anestésica, utilizando os fármacos diazepam, na posologia de 2,5 mg/kg, via IM, atropina, na posologia de 0,05 mg/kg, via SC, e butorfanol na posologia de 1 mg/kg, via IM.

Antibioprofilaxia

A antibioprofilaxia foi realizada após indução anestésica para reduzir a probabilidade de infeção bacteriana intraoperatória. Selecionei a enrofloxacina, na posologia de 5 mg /kg, via IM.

Anestesia geral

Para anestesia geral da cobaia, sem intubação orotraqueal, recorri à associação (em dosagem fracionada, de duas administrações) de quetamina, na posologia de 20 mg /kg, via IM e xilasina, na posologia de 10 mg /kg, via IM.

Monitorização da anestesia

Os sinais de profundidade anestésica pesquisados foram a insensibilidade ao beliscar das orelhas e da cauda e a ausência de retração da pata ao beliscar interdigital. Sinais inquietantes e indicadores de sobredosagem ou de choque foram a abolição do reflexo corneano, a abolição do reflexo anal, o atraso da recuperação da cor da mucosa labial

(superior a 2 segundos), a bradipneia (condição cirúrgica: 30-40 movimentos/minuto) e a bradicárdia (estado cirúrgico: 150 pulsações/minuto).

Anestésicos injetáveis	Dose	Via
Cirurgia ligeira		
Tiletamina-zolazepam	10 mg/kg	IM
Cirurgia pesada		
Seleção:		
Quetamina + Xilasina	20 mg/kg 10 mg/kg	SC, IM
Alternativa à xilasina		
Medetomidina + Antisedan (ao acordar)	250-300 µg/kg 50 µg/kg	IV, IM

Anestésicos voláteis	Dose
Halotano	3 – 4% na indução, seguida de 1- 2% na manutenção
Isoflurano	3 – 4% na indução, seguida de 1- 2% na manutenção

- Em circuito aberto ou semiaberto.
- Prever a indução com quetamina (15 mg/kg) ou tiletamina-zolazepam (10 mg/kg).
- Anestesia com máscara e possível intubação endotraqueal. O animal deve ser colocado em decúbito dorsal, cabeça em extensão.
- Utilizar um laringoscópio de pequena dimensão e praticar anestesia local (tronotano) antes da intubação.

Tabela 33 – Fármacos para anestesia geral de cobaias

Cuidados peri-operatórios

A cobaia é sensível à hipotermia cirúrgica e ao colapso cardiovascular. Medidas para evitar tais complicações, por vezes mortais, incluíram a utilização de colchão aquecido (saco de água quente), evitar amplas desinfecções com álcool (baixa da temperatura), colocação de soro fisiológico em perfusão IV (veia cefálica), perfusão de fluidos aquecidos e monitorização das funções vitais.

Recobro anestésico

No recobro anestésico, as cobaias foram acondicionadas em local aquecido a 28-30°C até acordarem. Após surgirem os primeiros sinais (pequenos movimentos), os animais foram acondicionados à temperatura ambiente de 25°C.

Analgesia pós-operatória

Selecionei para administração diária o butorfanol na posologia de referência de 1 mg/kg, via IM; e o anti-inflamatório ibuprofeno na posologia de 0,7 mg, via oral.

Alimentação pós-operatória

No próprio dia da operação, as cobaias não foram alimentadas. Porém, foram deixados feno e água à disposição. Pode ser fornecida sopa ou caldo de legumes para promover a retoma do trânsito intestinal, favorecer a eliminação de fezes e possibilitar a coprofagia, necessária a estes animais. Forneceram-se pelotas ou mistura completa no dia seguinte à intervenção.

Aplicação do protocolo de anestesia e analgesia

No âmbito do Projeto, realizei, com o Professor Doutor João O'Neill, a primeira operação de Nissen numa cobaia em março de 2010, no bloco operatório do Centro de Investigação do Departamento de Anatomia Humana. Entre março e outubro do mesmo ano, operei um conjunto de dezasseis cobaias adultas, da mesma estirpe *Cavia Porcellus*, de ambos os géneros, que apresentavam peso médio de 611 gramas.

O Projeto foi efetuado por etapas. Na primeira etapa, as animais foram anestesiados e operados, após terem sido distribuídos em dois grupos, o de controlo (GC), de seis cobaias, e o de ensaio (GE), de nove cobaias. Na segunda etapa sofreram eutanásia, sob anestesia geral, e na terceira foram injetados com contraste vascular.

Inicialmente, o protocolo de anestesia geral e de analgesia pós-operatória do Projeto integrou a anestesia geral (quetamina 20 mg/kg, via IM e xilasina 10 mg/kg, via IM) e, a analgesia pós-operatória (butorfanol, 1 mg/kg, via IM, diário e ibuprofeno, 0,7 mg, via oral). Todavia, a sua aplicação mostrou-se insuficiente para garantir a sobrevivência das cobaias GE.

A sobrevivência das cobaias GE, somente passou a ocorrer, com regularidade, quando introduzi a medicação pré-anestésica, administrada trinta minutos antes da anestesia geral, composta por um sedativo, o diazepam, 2,5 mg/kg, via IM, um anticolinérgico, a atropina, 0,05 mg/kg, via SC e um analgésico, o butorfanol, 1 mg/kg, via IM. Este aperfeiçoamento passou a abranger os dois grupos.

Na segunda etapa do Projeto, pelo sétimo dia de pós-operatório, correspondente ao termo do período experimental, as cobaias foram eutanasiadas por exsanguinação após pré-anestesia e de anestesia geral.

O mesmo plano de pré-anestesia e anestesia geral foi, também, aplicado nos casos de eutanásia humana, encurtando o período experimental, sempre que identifiquei critérios de *humane endpoints* como perda de peso acima de 20%, apatia, sinais de nociceção, recusa alimentar, recusa da ingestão de água, complicações da ferida operatória.

Resultados da aplicação do protocolo de analgesia e anestesia

A execução do protocolo cirúrgico do Projeto revelou-se difícil de materializar pelo desajustamento da versão original do protocolo anestésico. Com a primeira variante, sem pré-anestesia, operei onze cobaias (nove machos e duas fêmeas), possuindo média

ponderal de 623 gramas. Dois animais pertencentes ao GC e nove ao GE. Os dois animais do GC sobreviveram, sem morbidade nem mortalidade. Uma das cobaias engravidou e foi retirada do estudo; a outra foi eutanasiada, como previsto.

A laqueação dos vasos curtos gástricos e a funduplicatura total (operação de Nissen) foram muito mal toleradas pelos remanescentes nove animais do GE, registrando-se elevada morbidade e mortalidade. Cinco cobaias faleceram no pós-operatório imediato (56%). Outras três, manifestando recusa alimentar, desidratação e perda ponderal progressivas, sofreram eutanásia humana até ao quinto dia (33%). A autópsia dos animais falecidos, nas circunstâncias descritas, permitiu excluir causas de morte relacionáveis com a cirurgia (hemorragia, infecção, peritonite, etc.). Deste grupo, apenas um animal sobreviveu, equilibrado (11%), perecendo ao oitavo dia por eutanásia.

Melhoria significativa da sobrevivência das cobaias ocorreu após introduzir a medicação pré-anestésica. O protocolo de anestesia e analgesia foi aperfeiçoado, passando a integrar uma fase, essencial, de pré-anestesia, administrada trinta minutos antes da anestesia geral.

Com este ajustamento foram operadas sete cobaias, dois machos e cinco fêmeas, com média ponderal de 621 gramas, todos pertencentes ao GE. Neste grupo, seis cobaias sobreviveram e apenas uma morreu às doze horas, de causa cirúrgica, com peritonite por necrose cáustica do estômago, resultante da aplicação de *betadine*, solução cutânea a 10%. De entre as sobreviventes, quatro, apresentando algum decréscimo ponderal, foram eutanasiadas ao oitavo dia, e as duas restantes tiveram que sofrer eutanásia humana, ao quarto e ao sexto dia, pela gravidade dos sinais de nocicepção (apatia, recusa alimentar, desidratação, grunhido e rilhadura da cicatriz abdominal).

B. Protocolo operatório

Registos

Registaram-se em ficha própria individual os dados de cada cobaia: peso, data, técnica cirúrgica, tempo operatório, ocorrências, incluindo o exame objetivo do fundo gástrico após laqueação dos vasos curtos gástricos e realização da funduplicatura total no GE, morbidade e mortalidade.

Instrumental cirúrgico

O instrumental cirúrgico específico, esterilizado, disposto sobre uma mesa de Mayo, incluiu o equipamento de electrocirurgia com a pinça *Precise Ligasure, Covidien* para laqueação, segura e cómoda, dos vasos curtos gástricos.

Cuidados pré-operatórios

Os animais anestesiados, com tosquia mecânica prévia da parede abdominal anterior, foram posicionados em decúbito dorsal, sobre um saco de água quente à temperatura de 37°C, e imobilizados pelas patas, por meio de elásticos, à prancha operatória.

A todas as cobaias dos dois grupos foi realizada antibioprofilaxia, após indução anestésica, com enrofloxacina, 5 mg /kg, via IM.

Desinfecção cutânea

As operações foram efetuadas sob assépsia rigorosa tendo, a cada cobaia, sido aplicada desinfecção da pele com iodopovidona (*betadine*, solução cutânea a 10%)^d e apenso isolamento da área de intervenção cirúrgica, através da aplicação de um campo operatório adesivo esterilizado.

Técnica operatória

Nos dois grupos, GE e GC, a sequência operatória foi idêntica, relativamente ao tempo de laparotomia (mediana, subxifoideia, com seis centímetros de dimensão), afastamento dos bordos da incisão, com um dispositivo mecânico e colaboração do ajudante, laparorrafia, por método uniforme, com suturas contínuas, em dois planos mioaponevrótico e cutâneo, e aplicação sobre o encerramento cutâneo de penso biológico na forma de nebulização (pele plástica).

Entre os grupos, o método operatório diferiu na atitude que segui. Nas cobaias do GE, retraíndo o lobo esquerdo hepático, para exposição da porção intra-abdominal do esófago, do estômago e do baço, após exteriorização do estômago e posicionamento do baço, efetuei a laqueação dos vasos curtos gástricos (dois a três ramos, em média), com a pinça *Precise Ligasure, Covidien*, no setor proximal da grande curvatura do estômago, para libertação do fundo gástrico até à junção esofagogástrica (JEG), e a construção de uma funduplicatura total (360°), com a dimensão de três milímetros, lassa e sem tensão, sobre o esófago distal, a montante da JEG. Na sua confeção utilizei dois pontos de seda 4/0. Excluí a realização de cruroplastia pelo risco operatório acrescido e, por a sua realização ser desprovida de influência sobre a microcirculação fúndica.

Nas cobaias do GC, realizei apenas tração gástrica suave, suspendendo o antro entre o polegar e o indicador, durante dez minutos, com devolução do órgão à cavidade peritoneal, terminado o período de suspensão.

^d Composição de *betadine*, solução cutânea a 10%: A substância ativa é a iodopovidona 10g/100ml (correspondente a 1g de iodo ativo); 1 ml de solução contém 0,01 g de iodo ativo. Os outros componentes são: glicerol, nonoxinol 9, fosfato dissódico dihidratado, iodato de potássio, ácido cítrico monohidratado, hidróxido de sódio, água purificada.

C. Protocolo de eutanásia

Introdução

Eutanásia, ou morte suave, é o ato de matar, de modo humano, provocando um mínimo de dor, medo e *stress*. A dor é uma funcionalidade, necessária, do córtex cerebral e das estruturas subcorticais. A hipóxia, a depressão por indução farmacológica, o choque elétrico e a concussão produzem não funcionalidade do córtex cerebral. O *stress* (*eustress*, *neural stress*, *distress*) resulta de fatores físicos, fisiológicos e emocionais que induzem alteração do estado adaptativo do animal.

Os sinais de dor, medo e *stress* animal incluem: vocalizações, tentativas de fuga, agressão defensiva, salivação, arquejamento, urinar, defecação, libertação de odores e feromonas, dilatação pupilar, taquicárdia, sudação, contrações musculares reflexas, imobilização. O *stress* pode conduzir a que seja difícil atingir a inconsciência e o reconhecimento e confirmação de morte; e, condicionar reações que a simulam como: cessar dos batimentos cardíacos, suspender da respiração, ausência de reflexos, hipotermia inferior a 25° C (ratos e murganhos). Em caso de dúvida, deve utilizar-se um segundo método para assegurar o falecimento.

As indicações para eutanásia incluem necessidade do desenho experimental, no final de um ensaio ou quando existam efeitos adversos, sinais de dor e desconforto – perda de peso, inapetência, fraqueza, estado moribundo, infecção, disfunção grave de sistemas ou órgãos –, saúde e bem-estar colocados em causa, ausência de necessidade para produção, *stock* excessivo, ou com características indesejáveis, de animais.

Os critérios de avaliação e aceitação de um método de eutanásia são: inconsciência rápida e morte, mínimo de contenção, mínimo de excitabilidade, medo e *stress*, adequada à espécie e idade, fiável e reprodutível, irreversível, simples de realizar, segurança para o executante, estética e, emocionalmente, aceitável para o operador, compatível com o propósito da experimentação.

Mecanismos base dos agentes de eutanásia são: hipóxia, depressão direta dos neurónios necessários às funções vitais, interrupção física da atividade cerebral e destruição dos neurónios necessários às funções vitais (concussão, despolarização elétrica neuronal).

Os métodos de eutanásia físicos causam perda imediata da consciência através de traumatismo cerebral. Esteticamente desagradáveis, são rápidos e eficazes (executante treinado), provocam menos *stress*, carecem de boa contenção; pode ser necessário um segundo método.

Nos métodos químicos, as substâncias podem ser administradas por inalação (dióxido de carbono a 70%, monóxido de carbono, anestésicos voláteis – halotano, isoflurano), por absorção pela pele e guelras (aquários), e por via injetável, normalmente, IV ou IP (barbituratos – pentobarbital sódico; T-61 – anestésico local, hipnótico e curarizante, que causa paralisia do músculo estriado; sobredosagem anestésica).

São métodos de eutanásia aceitáveis para roedores: sobredosagem anestésica com barbitúricos ou anestésicos inalados, CO², CO, exsanguinação sob anestesia geral, cloreto de potássio precedido de anestesia geral.

Pré-anestesia e anestesia geral

Pelo sétimo dia de pós-operatório, correspondendo ao termo da experimentação, as cobaias, de ambos os grupos do Projeto, foram eutanasiadas, por exsanguinação, sob o mesmo modelo de pré-anestesia e anestesia geral usado no protocolo operatório. Idêntico figurino anestésico foi aplicado nos casos de eutanásia humana, encurtando o período experimental, sempre que se identificaram *humane endpoints* como: perda de peso acima de 20%, apatia, sinais de nocicepção, recusa alimentar, recusa da ingestão de água, complicações da ferida operatória.

Cada cobaia anestesiada foi colocada em decúbito dorsal sobre a prancha operatória e a ela fixada, pelas patas, com elásticos.

Esternotomia e cateterização da aorta ascendente

Após esternotomia mediana, separação dos bordos esternais com afastador automático e inspeção dos órgãos torácicos, procedi a pericardiotomia, a isolamento e referenciação da crosse da aorta e a colocação e fixação de um cateter intravenoso (*Abbocath*, calibre 14) na aorta ascendente, através de punção do ventrículo esquerdo.

As substâncias a perfundir e o contraste angiográfico foram, sequencialmente, administrados pelo cateter intravenoso, através de um prolongamento de silicone, entretanto adaptado ao mesmo, para conveniente estabilidade da preparação durante as manobras de perfusão.

Exsanguinação

A exsanguinação foi realizada através de venotomia na veia cava inferior, intratorácica, concomitantemente, com a perfusão (gota a gota) de soro fisiológico (200 cm³ a 300 cm³), heparinizado e aquecido a 37°C, pelo cateter colocado na aorta ascendente, para adequada lavagem da árvore vascular. A lavagem do leito vascular terminava quando o efluente venoso da veia cava era límpido.

D. Protocolo de injeção vascular

Injeção de contraste

Consoante o estudo angiomorfológico a efetuar, à lavagem da árvore vascular sucedeu-se a terceira etapa do Projeto que consistiu na injeção de um contraste vascular – sulfato de bário (Micropaque®) ou metilmetacrilato (Mercocox®) –, sendo os objetivos, o protocolo de injeção e os resultados obtidos descritos no capítulo oito.

Resumo

Para efetuar o Projeto idealizei quatro protocolos experimentais – anestésico, cirúrgico, de eutanásia e de injeção vascular – que apliquei aos dois grupos de cobaias, CG e GE durante as suas diversas etapas. A sobrevivência pós-operatória regular das cobaias GE só foi possível quando o desenho de anestesia foi aperfeiçoado e passou a integrar a pré-anestesia, administrada trinta minutos antes da anestesia geral.

Na primeira etapa do Projeto efetuei laqueação dos vasos curtos e funduplicatura total no GE e apenas tração gástrica no GC. Na segunda etapa, no 7º dia de pós-operatório, as cobaias dos dois grupos foram eutanasiadas. Na terceira etapa, logo de seguida, todas as cobaias foram injetadas com contraste vascular para estudo angiomorfológico.

Capítulo 10 – Técnicas de Estudo Angiomorfológico

A. Técnicas macrovasculares

Disseção

A disseção é técnica complementar da observação dos órgãos e das estruturas, imprescindível para a compreensão da anatomia. Em cirurgia visa a exposição dos detalhes anatômicos e a proteção das estruturas preservando o fluxo arterial, a drenagem venosa e a inervação, das mesmas. A disseção inicia-se pela incisão nos tegumentos, para acesso aos tecidos subjacentes ou às cavidades orgânicas, e a sua progressão pode revestir a forma aguda, com instrumentos cirúrgicos cortantes, ou romba, com dedo, compressa ou pinça, para afastar as estruturas anatômicas pelos planos naturais. Gesto essencial e indispensável, a disseção esteve omnipresente no estudo angiomorfológico da parede gástrica da cobaia para a compreensão da vascularização do estômago e para a colheita de espécimes para as técnicas laboratoriais.

Técnicas de injeção vascular

A injeção vascular permite a visualização dos vasos sanguíneos, superficiais e profundos, e a compreensão das relações que estes apresentam entre si e com as estruturas circunvizinhas. De entre as técnicas macrovasculares, injeção-disseção, injeção-corrosão-fluorescência, angiográfica e diafanização, utilizei as duas últimas.

Técnica angiográfica

No estudo da anatomia vascular da parede gástrica da cobaia usei o contraste angiográfico Micropaque®, uma suspensão coloidal de sulfato de bário, constituída por partículas de 0,1µm de diâmetro, capaz de progredir até aos capilares e dotada de boa radiopacidade. Esta técnica angiográfica foi desenvolvida e selecionada por Esperança Pina (1972). Nos parágrafos seguintes explico a sua utilização.

Cateterização da aorta ascendente da cobaia

Sob anestesia geral, efetuei esternotomia mediana e colocação de um afastador automático dos bordos esternais. Após inspeção dos órgãos torácicos procedi, por pericardiotomia, ao isolamento e referenciação da crosse da aorta e à colocação e fixação de um cateter intravenoso (*Abboath, calibre 14*) na aorta ascendente, através de punção do ventrículo esquerdo. Sequencialmente, dissequei e referenciei a veia cava inferior, sobre a qual realizei venotomia para exsanguinação.

Pelo cateter – adaptando um prolongamento de silicone para comodidade e estabilidade da preparação durante as manobras de injeção – administrei as substâncias a perfundir.

Exsanguinação e preparação da árvore vascular

A administração de heparina, na posologia de 0,2 cm³ seguida pela lavagem vascular com 200 a 300 cm³ de soro fisiológico, aquecido a 37°C, e heparinizado (1 cm³ de heparina = 5000 U, por litro de soro), foi concomitante com a exsanguinação, até que o refluxo pela veia cava inferior fosse límpido.[°] A remoção dos elementos figurados do sangue pela lavagem é importante, porque se não forem eliminados, constituirão obstáculo à penetração do produto de contraste na microvascularização.²²¹

Injeção do contraste

Com o termo da lavagem vascular, mantendo a tubulação escorvada, procedi à seringaço do contraste angiográfico, de forma tão fisiológica quanto possível, considerando a natureza do fluido, a pressão de injeção e o modo pulsátil de administração. O volume de contraste injetado equivaleu a 10% do peso de cada animal. A coloração da pele, das mucosas e das extremidades no tom do corante injetado foram critérios observacionais de adequado preenchimento vascular.

Refrigeração animal após injeção do contraste

Concluída a injeção do contraste cada animal foi refrigerado a dez graus negativos, durante três horas. A refrigeração favoreceu a solidificação intravascular do sulfato de bário.

Necrópsia e exame objetivo

A autópsia das cobaias foi um estágio importante por possibilitar o exame objetivo sistemático, com relevo para o esplâncnico, a confirmação laboratorial e histopatológica de morbidades, a aferição da qualidade da contrastação vascular gastrointestinal e a colheita de espécime, multiorgânico, em ambos os grupos, GC e GE, para diafanização.

O exame objetivo dirigiu-se à procura de sinais patológicos do cadáver com avaliação do estado geral, da nutrição, da hidratação, do pelo, da cicatriz operatória e das alterações de coloração da pele e mucosas provocadas pelo corante do material angiográfico.

Mediante exposição completa da cavidade torácica – rebatimento da parede anterior do tórax, após incisão supraesternal e parietal bilateral pela linha médio-axilar – explorei sequencialmente: parede do tórax, traqueia, pulmões, cavidades pleurais, coração, grandes vasos, esófago e diafragma.

Prolongando a exposição para a cavidade abdominal e pélvica – rebatimento total da parede anterior do tronco, após desinserção esternocostal bilateral do diafragma e incisões nos flancos, em continuidade com as torácicas – examinei sucessivamente: cicatriz operatória abdominal, cavidade peritoneal (aderências, hemoperitônio, peritonite, lesões orgânicas, extravasão de contraste), fígado, vesícula, vias biliares, esófago abdominal, estômago (no GE: fundo gástrico, funduplicatura), baço (no GE: isquemia), pâncreas, duodeno, intestino delgado, intestino grosso e genitais.

[°] Volume sanguíneo da cobaia equivale a 10% do peso, aproximadamente 60 cm³, em média.

Avaliação da qualidade da contrastação vascular esplâncnica

A injeção do contraste, suscetível de contratemplos, foi decisiva e influenciou a qualidade angiográfica final. Percalços previsíveis, cuja profilaxia muito contribuiu para a boa qualidade do resultado final incluíram: a dificuldade na cateterização da aorta, a perfuração da aorta ascendente, a deslocação ou exteriorização extemporânea do cateter, a alteração da viscosidade do contraste ou o seu derramamento para a cavidade pleural e/ou peritoneal.

Colheita de espécimes e preparação para diafanização

Em todas as cobaias, efetuei colheita de um espécime amplo, em bloco, constituído por esófago distal, estômago, eixo celíaco-mesentérico, baço, duodeno, pâncreas, vesícula e via biliar principal.

O estudo da angioarquitetura dos órgãos ocos é, tradicionalmente, difícil. A observação da vascularização do fundo e da grande curvatura gástrica acresceu dificuldades no que refere à necessidade de um suporte físico capaz de proporcionar apoio da parede gástrica. Para garantir um sustentáculo capaz de proporcionar apoio parietal gástrico, tridimensional, durante e após a realização da técnica de diafanização, recorri ao preenchimento do estômago com um ou dois pequenos globos de vidro transparente, após esvaziamento do respetivo conteúdo e lavagem gástrica com água corrente. Os globos de vidro, provenientes de pequenas lâmpadas, tipo incandescente, às quais removi o casquilho e o filamento, foram introduzidos no estômago por gastrotomia pré-pilórica. Com a parede gástrica tornada transparente pela diafanização, este recurso, impedindo o colapso das paredes do estômago, tornou possível a observação, macroscópica e com lupa estereoscópica, da anatomia vascular arterial.

.

Técnica de diafanização

A diafanização é um processo químico, por fases, que confere transparência aos tecidos e possibilita a observação macroscópica e microscópica do trajeto vascular, arterial e venoso dos órgãos, previamente, contrastados por técnica angiográfica.

A possibilidade de obter a transparência do estômago com injeção vascular prévia de sulfato de bário corado permitiu-me a observação macroscópica do trajeto vascular arterial e, em escala limitada, o estudo da angioarquitetura parietal.

A técnica de diafanização original, descrita por Décio Ferreira e H. Restani (1970), integrava as fases:

1. Fixação dos órgãos em aldeído fórmico a 10%.
2. Branqueamento por imersão, num líquido branqueador – solução de água de Javel a 5% e de ácido clorídrico a 10%, na proporção de 1:1 –, durante 72 horas, renovando o líquido até branqueação completa das estruturas.
3. Desidratação, imergindo, durante 48 horas, em álcool a 100° com uma relação de volume do órgão/volume do líquido desidratante de 1/10; sendo o órgão retirado do álcool, após esse tempo, e mergulhado em acetona pura, comercial, para completa desidratação e concomitante dissolução dos lípidos ainda existentes.

4. Clarificação mediante imersão no líquido diafanizante de Spalteholz – salicilato de metilo e benzoato de benzilo na proporção de 3:1 –, de modo a obter-se um completo esclarecimento da peça.

A técnica de diafanização descrita, originalmente, por Spalteholz (1914) difere da anterior pela utilização de diferentes líquidos branqueadores e processamento da fase de desidratação. Também Celestino da Costa (1926) se lhe refere, mencionando alguns passos da técnica no seu Manual de Técnicas Histológicas (pp.83-84).

A água oxigenada, a 100 volumes, é usada como líquido branqueador dos órgãos com contração vascular prévia, devendo estes permanecer imersos, durante 48 horas, e o líquido ser renovado duas vezes. Na fase de desidratação, os espécimes são submetidos a passagens, por álcoois de concentração crescente, durante 48 horas.

Recorrendo à técnica de diafanização modificada (O'Neill), os estômagos das cobaias desta experimentação foram mergulhados em concentrações crescentes de acetona para desidratação e, finalmente, imersos no líquido diafanizante de Spalteholz, conforme indicado na Tabela 34.

Sequência de fases	Líquido	Duração
Fase de fixação dos órgãos	Formaldeído a 10%, temperatura ambiente	24 horas
Branqueamento	O ₂ H ₂ a 130 volumes (peróxido hidrogénio a 35%) = 300 ml diluída em H ₂ O destilada a 30% = 700 ml	24 horas
Desidratação em acetona* de concentração crescente, a -20°C (<i>freeze substitution</i> em que a H ₂ O é substituída pela acetona) 24 horas em cada concentração até a acetona manter 90% (alcoólmetro)	Acetona a 75%	24 horas
	Acetona a 80%	24 horas
	Acetona a 85%	24 horas
	Acetona a 90%	24 horas
	Acetona a 93% *	24 horas
Clarificação por imersão no líquido diafanizante de Spalteholz ^f . Conservar nesta solução	Salicilato de metilo + Benzoato de benzilo (3:1) Alternativa: Salicilato de metilo + Benzoato de benzilo (2:3) (O'Neill)	24 horas
*A acetona pura tem concentração de 92% a 93%. A determinação da concentração é feita com alcoólmetro		

Tabela 34 – Técnica de diafanização modificada. Departamento de Anatomia (2012)^{222,223,224}

^f No seu artigo original, Spalteholz designava o benzoato de benzilo como “óleo verde de Berlim”. A composição do líquido de Spalteholz é variável consoante o órgão a estudar. Pretende-se que as concentrações sejam as adequadas para obter uma boa transparência; esta, visa aproximar o índice ótico da peça ao do líquido; quando tal acontece, deixa de ser visível o suporte de tecido ou da estrutura (O'Neill)

Observação dos espécimes após angiografia e diafanização

Efetuei análise, comparação e descrição, macroscópica e microscópica, da anatomia vascular arterial dos espécimes, angiografados e diafanizados, num grupo de quinze cobaias pertencentes aos dois grupos experimentais, GC e GE.

Os pormenores relativos à anatomia vascular, através das camadas histológicas das paredes gástricas, incluindo a vascularização da mucosa, foram analisados com lupa estereoscópica, *Carl Zeiss/Jena*, e descritos no capítulo dos resultados. Este dispositivo de ampliação, dotado de três modos de iluminação do objeto e de máquina fotográfica digital acoplada, permitiu a observação em relevo e o registo de imagens.

Com este recurso, os padrões normais de microcirculação, das paredes anterior e posterior do fundo gástrico do GC, foram cotejados com os homólogos do GE não tendo sido identificados fenómenos de rarefação microvascular nos fundos gástricos do GE, correlacionáveis com áreas de hipoperfusão secundárias à laqueação dos vasos curtos gástricos, nem foram identificadas áreas de vascularização terminal no fundo gástrico.

Resumo da aplicação da técnica combinada de angiografia e diafanização

1. Contrastação do sistema arterial com solução de Micropaque®.
2. Composição do contraste angiográfico: sulfato de bário (50%), gelatina a 10% (50%) e corante (4%).
3. Preparação da solução: em banho-maria, à temperatura de 60° C, durante trinta minutos.
4. Via de injeção: central, mediante cateterização da aorta ascendente, por punção ventricular.
5. Volume de solução a injetar por animal: 10% do peso individual (60 cm³ a 80 cm³), sendo critério indireto de adequado preenchimento vascular a coloração, no tom do corante injetado, da pele, das mucosas e das extremidades.
6. Refrigeração do animal injetado: a dez graus negativos, durante três horas.
7. Necrópsia: observação sistematizada do tórax e do abdómen.
8. Colheita de espécime gástrico para diafanização.
9. Diafanização: pela técnica modificada do Departamento de Anatomia da FCM.
10. Observação dos espécimes gástricos: macroscópica e com lupa estereoscópica, marca *Carl Zeiss/Jena*.
11. Registo fotográfico: por máquina digital acoplada à lupa estereoscópica.
12. Número de cobaias utilizadas: quinze.

B. Técnicas microvasculares

Os resultados do estudo da anatomia vascular por angiografia e diafanização ficaram aquém dos objetivos pretendidos, por não possibilitarem a análise e a compreensão da microcirculação da parede gástrica, dado o insuficiente poder de resolução da lupa estereoscópica.

A observação pormenorizada da circulação arteriolar parietal gástrica, apenas, foi possível efetuar recorrendo à injeção-corrosão e à microscopia eletrónica de varrimento de moldes microvasculares, técnicas que, assim, foram adicionadas ao Projeto para adequada prossecução do estudo.

Moldes microvasculares para microscopia eletrónica de varrimento

Na moldagem ocorre o preenchimento de espaços ociosos com uma substância que solidifica por polimerização. Se o produto injetado resistir aos agentes corrosivos, usados para remover os tecidos limítrofes, o espécime resultante denomina-se molde de corrosão ou de microcorrosão.

A utilização das resinas de metilmetacrilato para a obtenção de moldes vasculares por injeção-corrosão, foi introduzida, em 1965, por Santos Ferreira e Esperança Pina. Em 1971, Murakami propôs a utilização de técnica idêntica para a obtenção de moldes vasculares e subsequente observação ao microscópio eletrónico de varrimento, utilizando para o efeito uma resina de baixa viscosidade (Mercocox® CL-2B, com 27 centipoise de viscosidade absoluta para o produto não diluído - Ahapjnejad & Lantschwandtner, 1992).²²⁵

Ao solidificarem, os materiais de moldagem injetados reproduzem muitos dos detalhes estruturais das superfícies contactadas, como negativos (*injection replicaes*), possibilitando o estudo por microscopia eletrónica. Viscosidade, qualidade de replicação, resistência á corrosão, retração, estabilidade estrutural, propriedades elétricas, são características necessárias aos produtos químicos (acrílicos, epóxidos e poliuretano) usados para moldagem vascular.

Viscosidade é a propriedade hidrodinâmica de um fluido que depende da estrutura, das interações entre as suas moléculas e da temperatura a que se processa a reação de ativação. A viscosidade dos materiais de moldagem deve mimetizar a viscosidade do sangue (2,3 a 2,75 centipoise), sendo que, a viscosidade pode ser ajustada, quer pela adição de monómeros básicos, para redução, quer pela irradiação com luz ultravioleta, para aumento. A sucessiva adição de novas moléculas monómero aos radicais livres aumenta a cadeia de monómeros, originando uma cadeia polímera. A qualidade da replicação de uma resina de moldagem depende do tamanho dos monómeros/polímeros no momento, da replicação das propriedades hidrófilas ou hidrofóbicas do meio usado e do comportamento dos detalhes da superfície com os quais o molde contacta.²²⁶

Para preservar os detalhes estruturais, a resina de moldagem deve resistir às fases críticas de maceração dos tecidos, descalcificação e processos de limpeza final dos espécimes. Estas fases incluem a imersão em bases fortes (hidróxido de potássio) e/ou

em ácidos (clorídrico, fórmico) que podem deteriorar a superfície do molde e mascarar os detalhes estruturais nela reproduzidos.

Durante a polimerização ocorre encurtamento das cadeias. Quanto menor for a viscosidade de uma resina maior será o encurtamento final; pelo contrário, quanto maior viscosidade menor o encurtamento. As cadeias poliméricas encolhem em todas as direções (linear e volume).

A tridimensionalidade, uma vantagem da corrosão microvascular, fornece informação acerca da disposição espacial e das relações das estruturas moldadas. Durante o processo de moldagem pode gerar-se distorção espacial dos vasos por disposição inapropriada do espécime causando compressão vascular e deflexão do seu trajeto normal por pressão de injeção demasiado elevada causando encurvamento ou mesmo enrolamento dos vasos fornecedores de maior calibre.²²⁷

A obtenção de moldes microvasculares ótimos depende de um delicado processo de preparação que inclui: pré-tratamento (administração de sedativo, anticoagulante, fármacos vasoativo, fármacos relaxantes), anestesia (inalação ou injeção), lavagem vascular – *flushing* – (cloreto de sódio, sendo importantes: molaridade, osmolaridade, pH, temperatura, pressão), perfusão (com ou sem fixação), injeção do meio de moldagem (local, pressão, duração, volume injetado), solidificação da resina de moldagem – *curing* – (duração, temperatura); excisão de órgãos ou tecidos, temperando – *tempering* – (imersão em água a 60°, durante a noite), maceração (total ou parcial), lavagem (em água tépida), descalcificação (em HCl a 2%, à temperatura da sala), secagem do molde (ao ar ou secador), montagem na placa metálica – *stub* – (meio condutor), metalização (método químico vapor de ósmio, método físico evaporação com ouro), análise com microscopia eletrônica de varrimento, fotografia (simples ou tridimensional).²²⁸

O metilmetacrilato, o meio de moldagem que utilizei, possui muito baixa viscosidade, atravessa os capilares com facilidade, reproduz as impressões dos núcleos celulares endoteliais, polimeriza em alguns minutos e evidencia retração mínima durante a polimerização (Lametschwandtner e cols., 1990).²²⁹ É comercializado como Mercox® CL-2B, pré-polimerizado, corado, embalado em garrafa de plástico de 500 ml e fornecido em conjunto com um frasco de 100 gramas de um catalisador iniciador. O Mercox® CL-2B deve ser armazenado a baixa temperatura (4°C), para impedir a polimerização, em frasco, hermeticamente, fechado e em ambiente ventilado. A elevada volatilidade do monómero assim como a relativa baixa viscosidade confere risco para a saúde em caso de manipulação prolongada sem cuidados de proteção.

Os meios de moldagem devem, idealmente, fazer a sua polimerização sem distorções ou retrações, pois os moldes deverão refletir o estado *in vivo* do sistema vascular. O Mercox® CL-2B retrai cerca de 6% a 8%. As artérias e as veias caracterizam-se por padrões endoteliais distintos, podendo os capilares arteriais e venosos ser distinguidos nos moldes vasculares.

Técnica de injeção-corrosão

Apliquei a técnica de injeção-corrosão em quinze cobaias, empregando o método do Centro de Investigação do Departamento de Anatomia descrito, utilizado e comprovado em numerosos trabalhos por João O'Neill, Diogo Pais e Esperança Pina.²³⁰

A sequência experimental foi equivalente à descrita na técnica de angiografia e diafanização, relativamente, a pré-anestesia, anestesia geral, eutanásia, esternotomia, cateterização da aorta ascendente, heparinização, lavagem vascular e exsanguinação.

Fixação do órgão por via vascular

Finda a lavagem vascular, procedi à introdução lenta, através do cateter colocado na aorta, de 10 ml de um fixador, o gluteraldeído, a 2,2 %, com tampão fosfato, pH de 7,28, variando a duração da fixação cinco minutos.

Meio de moldagem e pressão de injeção

Seguidamente, injetei uma solução de metilmetacrilato, o Mercocox® CL-2B, de cor azul, adicionada de 4 ml de catalisador, na proporção de 20:1, de forma contínua, sob pressão manual constante. Quando a injeção progride sem controlo tensional, a pressão ou é demasiado baixa, conduzindo a um deficiente preenchimento do leito vascular, ou é demasiado elevada e conduz a um extravasamento do produto por roturas vasculares. Quando a pressão é baixa, os moldes vasculares aparecem com imagens de terminações vasculares súbitas, em fundo-de-saco, ou com uma ondulação longitudinal, sem impressões dos núcleos das células endoteliais, que poderá levar à errónea identificação de um vaso arterial quando na realidade se trata de um venoso.

Volume injetado

Individualmente, a quantidade injetada correspondeu a 10% do peso da cobaia (55 cm³ a 80 cm³). Empreguei o critério do nariz seco (*dry nose criterion*), utilizado nos mamíferos, que se caracteriza pela continuação da injeção até que se observe a saída de transudado do nariz do animal. Constatei a perda frequente de certa quantidade de meio de moldagem, por extravasamento.

Polimerização

Após a injeção, os animais permaneceram à temperatura ambiente durante algumas horas e, seguidamente, foram imersos em banho de água quente, a 60° C, durante vinte e quatro horas. A temperatura elevada destinou-se a promover a polimerização, minimizar a dessecação e a retração do meio de moldagem, evitando distorções do sistema vascular e a amolecer os tecidos, tornando a corrosão subsequente mais simples e mais fácil.

Corrosão

A corrosão ou maceração iniciou-se quando o meio de moldagem se encontrava totalmente polimerizado e bem solidificado, sendo o animal inteiro, ou um espécime ressecado, colocado numa solução corrosiva.

As cobaias injetadas foram sujeitas a imersões sucessivas em hidróxido de potássio a 7%, durante cerca de 48 horas, à temperatura de 40°C, para desaparecimento dos tecidos vizinhos, moles e duros. Para facilitar a penetração do líquido corrosivo, os animais foram alternadamente lavados com soluções desengordurantes. Finda a maceração subsistiram, essencialmente, os moldes vasculares de corrosão. As soluções de maceração, de descalcificação e de limpeza utilizadas possuíam fraca concentração para evitar o dano das superfícies dos moldes vasculares.

Apesar dos cuidados adotados para minimizar as deformações e as quebras durante as múltiplas transferências das peças da solução de corrosão para água corrente e vice-versa, dada a grande fragilidade dos moldes vasculares gástricos, adotei a estratégia de, após solidificação completa da solução injetada, proceder a autópsia e colheita dos estômagos para corrosão independente, evitando a manipulação direta do órgão para acautelar as fraturas dos moldes capilares. Consegui, assim e de forma consistente, bons espécimes para observação por microscopia eletrónica de varrimento.

Limpeza do molde microvascular

Alguns moldes vasculares apresentando restos de matéria orgânica após corrosão foram introduzidos num banho de ácido fórmico a 5%, durante 5 a 15 minutos, para eliminação dos resquícios de tecidos. A limpeza final foi feita por disseção ao microscópio, utilizando uma seringa com agulha e um jato de água quente. Apenas os moldes vasculares bem limpos transitaram aos tempos seguintes.

Secagem

A secagem dos moldes foi efetuada em estufa, com temperatura entre 20 e 30° C. A secagem, por ponto crítico, utilizada para o enxugo de preparações de tecido intacto para microscopia eletrónica de varrimento, não está indicada para a secagem de moldes microvasculares.

Disseção do molde microvascular

A disseção do molde microvascular foi efetuada depois da secagem, por camadas, ao microscópio ou à lupa estereoscópica, tendo os moldes sido manipulados com instrumentos apropriados àquela finalidade.

Montagem do molde microvascular

Os moldes microvasculares foram colocados e fixados com fita-gomada bilateral em suportes de alumínio adequados para microscopia eletrônica de varrimento sendo, por vezes, reforçada a terra com pontes de prata coloidal.

Condutividade elétrica do molde microvascular

Não sendo condutores de eletrões, os moldes microvasculares têm que ser cobertos com uma camada condutora, que evite a formação de eletricidade estática, para poderem ser observados ao microscópio eletrónico de varrimento.

A condutibilidade foi obtida na câmara de um metalizador (*sputter-coater*) com bomba de vácuo incorporada, em atmosfera rarefeita de Árgon, onde os moldes microvasculares foram cobertos com uma fina película de ouro paládio. A cobertura com película de ouro é feita através de um cátodo de ouro a 400 A e com uma voltagem de aceleração entre 4 e 7 kV. O molde sofre aquecimento mínimo, graças à existência no metalizador de um ânodo com magnete assistido.

Análise ao microscópio eletrónico de varrimento

Observei os moldes vasculares de todos os setores de estômagos de cobaias, metalizados a liga de ouro-paládio durante 120 segundos, ao microscópio eletrónico de varrimento JEOL JSM-5410, com voltagem de aceleração de 1.2-30kV. Tendo por objetivo a análise do setor proximal do estômago, a minha atenção foi mais incisiva nos moldes vasculares do cárdia, do fundo e da região dos vasos curtos gástricos. Descrevi e classifiquei as arteríolas, medindo o diâmetro vascular (Rhodin), pesquizei as impressões dos núcleos das células endoteliaias nas superfícies dos moldes (Miodonski, 1976 e Hodde, 1977)^{231,232} e interpretei alguns efeitos de cunhagem, gravados em alguns moldes vasculares dos vasos retos, como resultantes da tensão exercida pela camada *muscular propria* sobre a adventícia dos mesmos. Na observação dos moldes microvasculares, em microscopia eletrónica de varrimento, são parâmetros importantes, cujo controlo condiciona as observações, a distância de trabalho, a largura do feixe de eletrões (*spot*) e a tensão de aceleração que para o estudo de moldes microvasculares varia entre 1 e 25 kV.

Registo fotográfico

O registo fotográfico das imagens de microscopia eletrónica de varrimento, com medição dos calibres arteriolares gástricos das cobaias, foi efetuado com o sistema digital de registo de imagem *SemAfore*, versão 5-0.

Armazenamento dos moldes microvasculares

Os moldes microvasculares metalizados foram conservados em recipientes bem fechados para evitar o depósito de poeiras na sua superfície.

Resumo da aplicação da técnica de injeção-corrosão para microscopia eletrônica de varrimento

1. Obtenção de moldes vasculares com injeção de Mercocox® CL-2B.
2. Composição da solução: metilmetacrilato, Mercocox® CL-2B, de cor azul, adicionada de 4 ml de catalisador, na proporção de 20:1
3. Preparação da solução: à temperatura ambiente.
4. Via de injeção: central, mediante cateterização da aorta ascendente, por punção ventricular.
5. Volume de solução a injetar por animal: 10% do peso individual (60 cm³ a 80 cm³), sendo “*dry nose*” critério indireto de preenchimento vascular adequado.
6. Polimerização da resina: imersão da cobaia em banho de água quente, a 60° C, durante vinte e quatro horas.
7. Maceração: mediante imersões sucessivas em hidróxido de potássio a 7%, durante cerca de 48 horas, à temperatura de 40°C, para desaparecimento dos tecidos vizinhos, moles e duros.
8. Limpeza, secagem e disseção do molde microvascular.
9. Montagem do molde microvascular em suporte de alumínio.
10. Observação ao microscópio eletrônico de varrimento JEOL JSM-5410, com voltagem de aceleração de 1.2-30kV.
11. Registo fotográfico: sistema digital de registo de imagem *SemAfore*, versão 5-0.
12. Número de cobaias utilizadas: quinze.

C. Técnica microvascular e histologia

Análise da parede gástrica por microscopia ótica

A associação da técnica de injeção vascular arterial, com solução de tinta-da-china, com a histologia teve por objetivo a análise integrada da morfologia parietal e da microcirculação arteriolar, das diversas regiões gástricas, com realce para o exame das características da mucosa do estômago da cobaia.

A sequência experimental foi equivalente à descrita na técnica de angiografia e diafanização, relativamente, a pré-anestesia, anestesia geral, eutanásia, esternotomia, cateterização da aorta ascendente, heparinização, lavagem vascular e exsanguinação.

Meio de contraste e pressão de injeção

Após exsanguinação injetei a árvore vascular com uma solução constituída por gelatina (70%) e tinta-da-china (30%), na quantidade de 75 cm³, de forma contínua, sob pressão manual constante.

Refrigeração e necrópsia

A seguir à refrigeração cadavérica, a -20°C, durante uma hora, para solidificação intravascular da gelatina, efetuei autópsia e colheita do espécime constituído por esófago, estômago e duodeno.

Fixação com formol

O estômago foi preenchido com formol a 10% e, seguidamente, efetuada a laqueação proximal do esófago e distal do duodeno. O espécime esteve imerso em formol a 10%, durante 24 horas, para fixação.

Protocolo para análise histológica, por região gástrica

- a) Fotografia do espécime preenchido com formol.
- b) Definição de 10 regiões do estômago e colheita de fragmentos representativos de cada uma:
 1. Fundo;
 2. Transição esofagogástrica;
 3. Grande curvatura – região dos vasos curtos gástricos;
 4. Grande curvatura – região do corpo e do antro (presumível zona aglandular);
 5. Pequena curvatura (pretensa zona glandular);
 6. Corpo;
 7. Antro;
 8. Píloro;
 9. Eventual transição glandular/aglandular;
 10. Transição antro-pilórica.
- c) Obtenção de cinco cortes histológicos por cada fragmento representativo de cada região selecionada.
- d) Coloração com hematoxilina-eosina realizada no Serviço de Anatomia Patológica do CHLC.

e) Observação ao microscópio ótico.

Resumo da associação da técnica de injeção vascular, com tinta-da-china, com a histologia

1. Injeção do sistema arterial com solução de tinta-da-china,
2. Composição da solução: tinta-da-china (30%), gelatina a 10% (70%).
3. Via de injeção: central, com cateterização da aorta ascendente por punção ventricular.
4. Volume de solução a injetar por animal: 10% do peso individual (60 cm³ a 80 cm³), sendo critério indireto de adequado preenchimento vascular a coloração no tom do corante injetado, da pele, das mucosas e das extremidades.
5. Refrigeração do animal injetado: a vinte graus negativos, durante uma hora.
6. Necrópsia: observação sistematizada do tórax e do abdómen.
7. Colheita de espécime gástrico: preenchimento com formol e imersão em formol.
8. Técnica laboratorial: coloração histológica com hematoxilina-eosina.
9. Observação ao microscópio ótico: análise das camadas histológicas das várias regiões do estômago; relevância para a pesquisa das características da mucosa.
10. Registo fotográfico: máquina digital acoplada ao microscópio ótico.
11. Número de cobaias utilizadas: uma.

Capítulo 11 – Consequências Práticas

A. Da clínica veterinária

Desenvolvi curva de aprendizagem em diversas áreas da experimentação. Neste conceito integrei a utilização de técnicas de injeção com meios de contraste alternativos, nos animais falecidos, extemporaneamente, durante a execução do Projeto, para melhor compreensão da microcirculação e da histologia parietal gástrica. Na fase clínica utilizei 21 cobaias (39%), tendo as últimas oito, constituído uma série final de conveniência.

No capítulo das técnicas de injeção angiomorfológica, mencionei os tipos de meios de contraste que empreguei: sulfato de bário (Micropaque®), metilmetacrilato (Mercox® CL-2B) e tinta-da-china. Os espécimes injetados com sulfato de bário foram, sequencialmente, sujeitos a processo de diafanização que, tornando-os transparentes, me possibilitou a observação da circulação arterial macrovascular da parede do estômago com lupa estereoscópica. Com a injeção de metilmetacrilato, sucedida de corrosão em hidróxido de potássio a 7%, obtive moldes vasculares que, posteriormente, colocados em estrados de alumínio e metalizados com ouro paládio foram analisados por microscopia eletrónica de varrimento, permitindo-me a observação arteriolar intraparietal. A tinta-da-china facultou-me a análise da histologia e da microcirculação da parede gástrica com microscopia ótica.

O estudo angiomorfológico de órgãos ociosos, como o estômago, apresenta limitações pela tendência à deformação e colapso parietal. Ensaçando alguns materiais (perspex, parafina, vidro), apenas, obtive resultados favoráveis com a colocação intragástrica de um ou dois pequenos globos de vidro transparente (onze casos) através de uma pequena gastrotomia no antro pré-pilórico para suporte tridimensional das paredes do estômago durante e após o processo de diafanização. A estratégia favoreceu-me a análise macroscópica e com lupa da angioarquitetura de cada região gástrica.

Balanco dos resultados com o método experimental, apoiado na análise dos dados coligidos no ficheiro informático de registo dos assuntos de clínica veterinária do Projeto.

Nº de cobaias utilizadas

No desenvolvimento do Projeto, até 21 de junho de 2012, utilizei cinquenta e quatro cobaias, com peso médio de 653,8 gramas (min: 435, máx: 875), pertencendo vinte e duas ao género feminino e trinta e duas ao masculino.

Ano	Número de cobaias
2008	2
2009	13
2010	19
2011	5
2012	15
Total	54

Tabela 35 – Cobaias utilizadas por ano de experimentação

Atividade clínica veterinária

Entre 02 de março de 2010 e 21 de junho de 2012 operei trinta e três cobaias (61%) nas quais realizei as intervenções previstas no Projeto. Vinte cobaias (61%) sobreviveram e as restantes treze (39%) morreram. Das sobreviventes excluí duas, uma por gravidez (GC) e a outra por ter sido utilizada em teste farmacológico de anestesia geral.

Grupo	Cobaias operadas	Sobrevida	Óbito
GC	6	5	0
GE	26	13	13
Teste anestesia		1	
Total	32	19	13

Tabela 36 – Cobaias utilizadas no Projeto

A cobaia é um roedor delicado e as consequências da cirurgia foram, com frequência, contundentes. Ocasionalmente, necessitei antecipar a morte de acordo com os pontos terminais aceitáveis de eutanásia humana (*humane endpoints*).

A desproporção numérica entre os grupos GE e GC, Tabela 36, decorreu da elevada morbimortalidade das cobaias ocorrida com a operação de Nissen, antes da introdução de pré-anestesia no protocolo de anestesia geral.

Constituição das equipas cirúrgicas

Cirurgião	Assistente	Número de operações
Guedes da Silva	Professor Doutor João O'Neill	5
	Dr. ^a Assunção O'Neill	5
	Dr. ^a Cristina Almeida	1
	Dr. Pedro Barata	13
	Dr. Luís Mascarenhas	6
	Dr. ^a Patrícia Pereira	1

Tabela 37 – Constituição das equipas cirúrgicas

Pré-anestesia e mortalidade anestésica

A adição de pré-anestesia ao protocolo anestésico a partir do décimo terceiro animal, interrompeu a pesada incidência de letalidade e possibilitou a sobrevivência regular no GE, modificando, assim, o panorama da mortalidade anestésica.

Passando a ser sistemática, trinta minutos antes da anestesia geral, a pré-anestesia abrangeu: um sedativo, o diazepam, 2,5 mg/kg, via IM; um anticolinérgico, a atropina, 0,05 mg/kg, via SC; e um analgésico, o butorfanol, 1 mg/kg via IM.

Antes da pré-anestesia, apenas haviam sobrevivido à anestesia geral duas de dez cobaias operadas (20%), sendo uma do GE e outra do GC. Depois, sobreviveram 19 de 21 cobaias (90%), correspondendo dezassete ao GE e quatro ao GC.

Apesar da aplicação da pré-anestesia, verifiquei dois óbitos por causa não cirúrgica no pós-operatório imediato. Interpretei-os como consequência da manipulação do hiato esofágico e da transição esofagogástrica, durante a aquisição de passagem retroesofágica por se tratar de uma zona muito reflexogénea, condicionante de vagotonia e paragem cardiorespiratória. Passei a administrar a atropina IM (parassimpaticolítico) no intra- ou no pós-operatório imediato (0,05 mg/kg, via SC) na presença de bradicárdia e nos casos de manipulação hiatal mais complexa.

Mortalidade operatória (até ao 7º dia)

Nas 31 cobaias operadas verifiquei 11 óbitos (35%) de causa cirúrgica, tendo conseguido identificar as etiologias descritas na Tabela 38. Para redução do número de animais utilizados, sempre que exequível, os cadáveres foram injetados com contraste angiográfico e os espécimes gástricos analisados.

Etiologia / resultado necrópsia	Óbito	Eutanásia humana
Gangrena caústica do fundo gástrico (<i>betadine</i> a 10%)	1	
Rotura do fundo gástrico	1	
Esplenectomia total (desvascularização esplénica)	1	
Pneumotórax iatrogénico (incisão de laparotomia)	1	
Congestão pulmonar	2	
Diversa	1	
Perda de peso, recusa alimentar, cicatriz roída		4
Total	7	4

Tabela 38 – Mortalidade operatória

Resultados angiográficos

A Tabela 39 resume os resultados da injeção vascular de trinta e três cobaias pelos métodos descritos.

Contraste angiográfico	Experimentação Essencial		Experimentação Clínica		Total
	Resultados		Resultados		
	Bom	Mau	Bom	Mau	
Micropaque®	4	4	8	1	17
Mercocox®	5	6	2	1	14
Tinta-da-china	1	-	-	-	1
Gluteraldeído	1	-	-	-	1
Contraste não administrado	-	-	-	-	11
Total	11	10	10	2	44

Tabela 39 – Resultados da injeção vascular (sem a série final)

B. Das técnicas de estudo angiomorfológico

O Projeto que desenvolvi foi multifacetado. Na sua elaboração necessitei realizar curva de aprendizagem em várias disciplinas, de que destaco ciência de animais de laboratório, ciências morfológicas, ciências clínicas (anestesia de roedores), técnicas de estudo angiomorfológico. Os seus resultados foram fruto de trabalho profícuo, reflexão sobre sucessos e desaires da experimentação, contributos e sugestões da equipa de investigadores, de colegas de diversas áreas a quem solicitei pareceres e dos técnicos de laboratório do Centro de Investigação do Departamento de Anatomia.

As técnicas de injeção possibilitaram a obtenção de espécimes de estômago de cobaia, em boas condições, para análise da anatomia macroscópica e microscópica.

Sendo objetivo do Projeto compreender as possíveis repercussões da laqueação dos vasos curtos gástricos e da funduplicatura total sobre a microcirculação do fundo gástrico, procedi: numa primeira fase, à análise e descrição da anatomia normal, macro e microvascular, do estômago da cobaia; numa segunda fase, à definição dos critérios morfológicos que considere suscetíveis de validação deste modelo animal para o estudo proposto; e numa terceira fase, a análise comparativa, nos grupos GC e GE, dos efeitos da laqueação dos vasos curtos gástricos e da funduplicatura total sobre a microcirculação do fundo gástrico, alargando a pesquisa ao cárdia e ao setor proximal da grande curvatura.

A literatura sobre angiomorfologia gástrica da cobaia é escassa; por isso, recorri a técnicas de injeção vascular para a sua compreensão. Para descrição da vascularização arterial do estômago recorri a disseção e análise de dezasseis espécimes gástricos injetados, com sulfato de bário (Micropaque®) e diafanizados. Para descrição da microangioarquitetura por microscopia eletrónica de varrimento de moldes de corrosão vascular procedi à análise de seis espécimes gástricos injetados com metilmetacrilato (Mercox®). E, para descrição histológica da parede gástrica, recorri à injeção e análise de um espécime injetado com tinta-da-china. Nos três subcapítulos subsequentes descrevo os resultados originais das minhas observações.

As observações angiomorfológicas possibilitaram duas comunicações, em poster, no XII Simpósio de Doenças Morfológicas em São Paulo, no ano 2012, com os autores e os títulos:

- a. Guedes da Silva JL, Barata PC, O'Neill A, O'Neill JG – Arterial vascularization of the guinea pig stomach. Macroscopic description (poster). XII International Symposium on Morphological Sciences. São Paulo, Brazil, 2012.
- b. Guedes da Silva JL, Barata PC, O'Neill A, O'Neill JG – Arteriolar architecture of the guinea pig stomach by scanning electron microscopy of vascular corrosion casts (poster). XII International Symposium on Morphological Sciences. São Paulo, Brazil, 2012.

Tronco celíaco-mesentérico

O tronco celíaco-mesentérico, ramo da aorta abdominal, fornece os tributários que irrigam o estômago – artéria gástrica esquerda, artéria gastro-omental esquerda e artéria esplénica.

Artéria gástrica esquerda

A artéria gástrica esquerda tem origem na artéria *gastrolíenalis*, ramo do tronco celíaco-mesentérico. Divide-se em dois ramos parietais superiores, destinados ao terço proximal das paredes do estômago e um ramo inferior ou distal destinado aos dois terços distais gástricos e ao duodeno. Estes ramos, ou os seus colaterais, adquirem posição serosa quando atingem a parede gástrica.

Um dos ramos superiores, contornando o lado esquerdo do esôfago distal, pelo ângulo de His, caminha sobre a face anterior do estômago e, mediante subdivisões sucessivas, fornece o fundo e a região proximal do corpo gástrico (Figura 7). Disposição equivalente é apresentada pelo outro ramo superior que se distribui ao terço proximal da parede posterior.

O ramo distal, por sua vez, apresenta um percurso no pequeno epiploon, paralelo à pequena curvatura, desde a sua origem até ao duodeno. Durante este trajeto, fornece as duas paredes gástricas com ramos parietais de grandeza variável, sendo frequente a existência de dois troncos principais, respetivamente anterior e posterior, que abordam o estômago a meio da pequena curvatura e, por subdivisão, distribuem-se ao antro e ao piloro. Designo-o tronco antropilórico pela sua constância e pela dimensão do fornecimento arterial que proporciona aos dois terços distais do estômago, mercê de extensa arborização vascular (Figura 8).

Ao longo das paredes do estômago, os ramos parietais da artéria gástrica esquerda subdividem-se e originam ramos secundários serosos (Figura 9). Os ramos serosos mostram distribuição centrífuga divergindo, em leque, da pequena para a grande curvatura e do bordo direito para o bordo esquerdo do fundo gástrico, segundo um padrão de distribuição arterial que se torna mais perceptível após injeção vascular de sulfato de bário e diafanização. No seu conjunto, as ramificações observáveis simulam um mapa onde é possível estratificar as divisões arteriais por ordem de grandeza, consoante o calibre e as anastomoses vasculares. A artéria gástrica esquerda é responsável por 70% a 80% da vascularização parietal gástrica.

Desde a sua origem, na pequena curvatura ou no bordo fúndico direito e à medida que se aproximam da grande curvatura, as artérias de maior calibre apresentam dois subtipos de ramificação: um colateral, mais delgado, que emerge com pouca ou nenhuma repercussão no calibre do ramo original; e outro sequencial, em regra sob a forma de bifurcação, cujos ramos sucessores, mais esguios, possuem cerca de metade do calibre do respetivo antecessor.



Figura 7 – Região fúndica, divisão dicotômica dos ramos da artéria gástrica esquerda

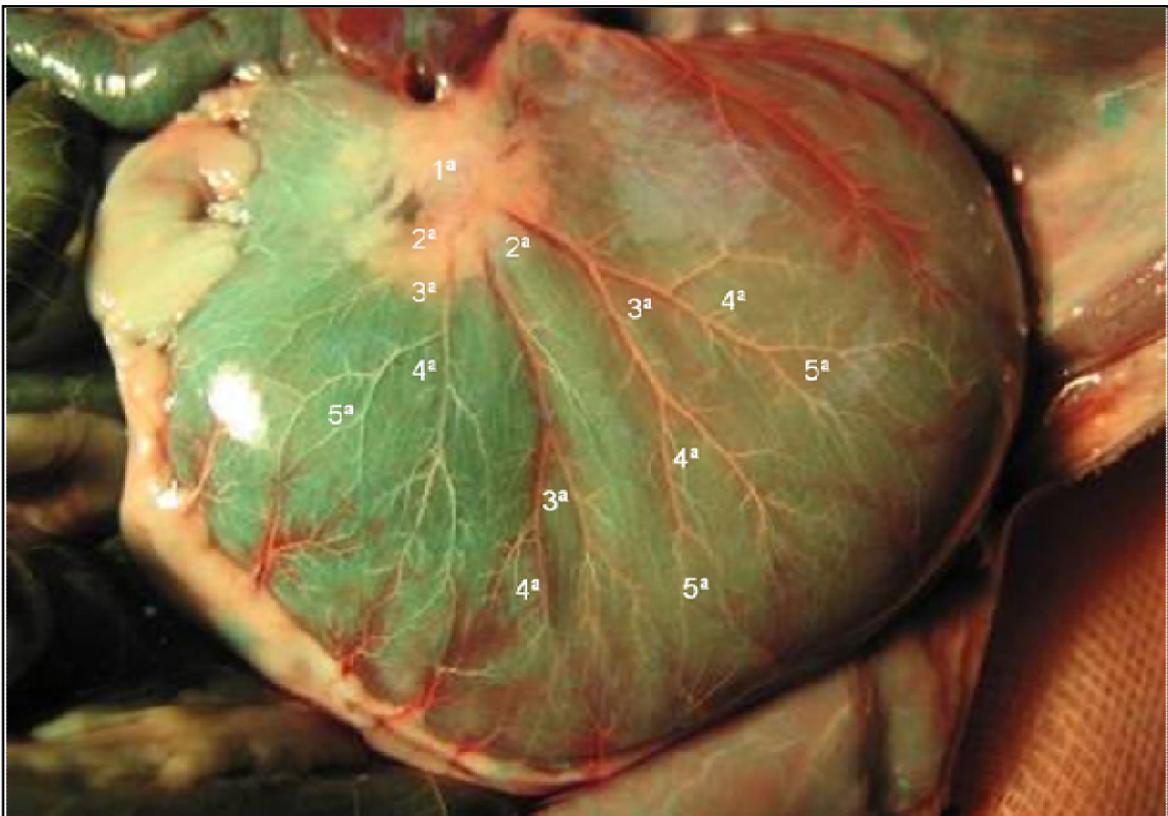


Figura 8 – Tronco antropilórico, gerações de divisão dicotômica dos ramos da artéria gástrica esquerda sobre a parede anterior

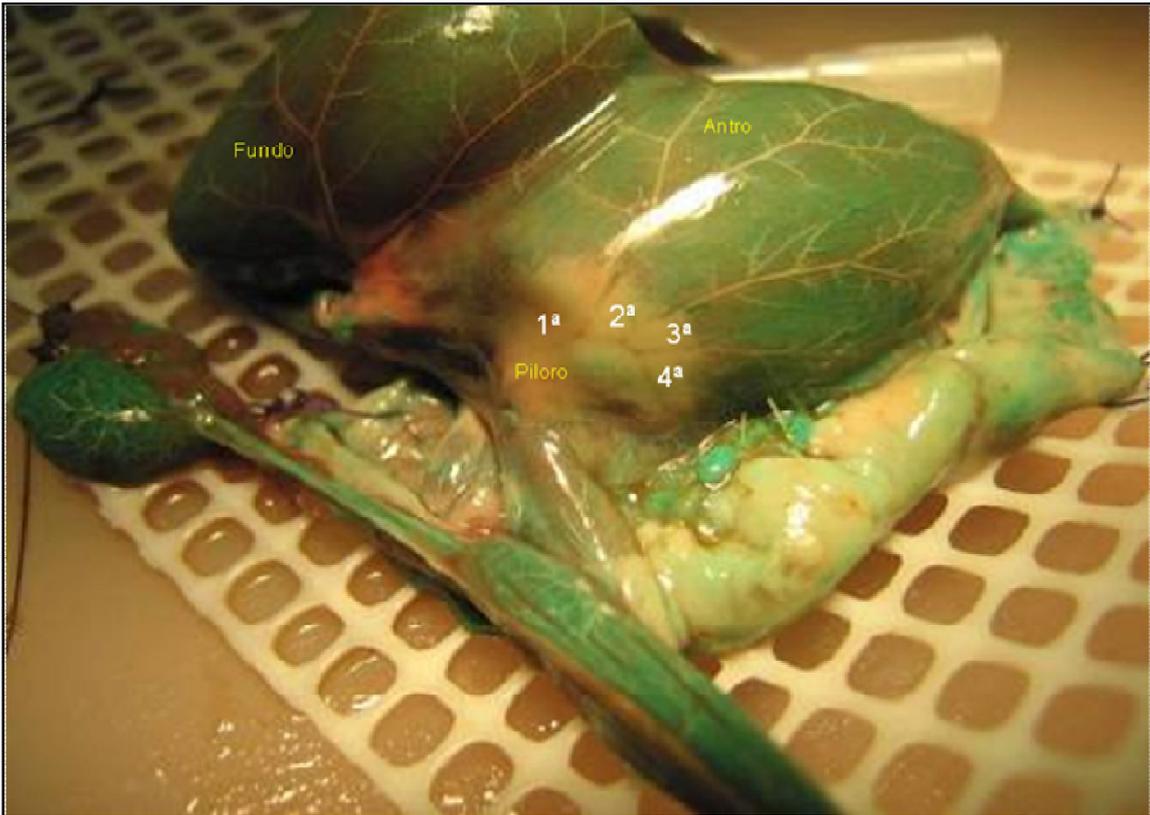


Figura 9 – Região pilórica, divisão dicotômica dos ramos da artéria gástrica esquerda

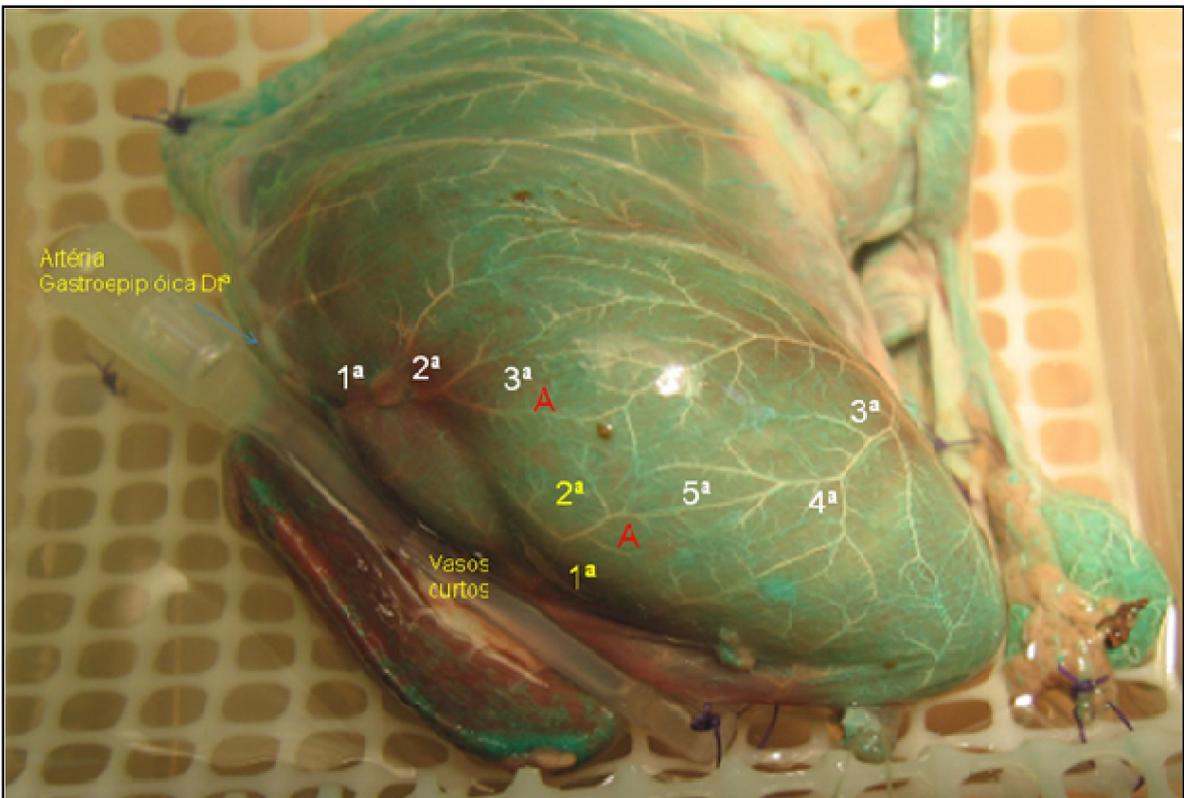


Figura 10 – Grande curvatura, anastomoses arteriais

Cada um dos subtipos mencionados pode apresentar partição idêntica. No entanto, o ramo colateral tende a ser terminal e penetrante e o ramo sequencial a subdividir-se, por bifurcação, dando origem a uma nova ordem de ramificação. Os dois subtipos podem apresentar anastomoses entre si (Figuras 11, 12 e 13). Na variante colateral, o número de subdivisões tende a ser mais sóbrio. Na variante sequencial, podem ocorrer cinco ou mais subdivisões entre a origem da artéria e a sua conclusão, por anastomose com ramos de calibre homólogo quer entre si, quer com os colaterais oriundos da artéria gastro-omental esquerda, na proximidade da grande curvatura e dos vasos curtos gástricos, no fundo gástrico (Figura 10).

Artéria gastro-omental esquerda

Ao nível da extremidade caudal do baço, a artéria esplénica origina a artéria gastro-omental esquerda, que é, maioritariamente, responsável pela vascularização da grande curvatura. Ao longo dela, a sua disposição guarda estreita relação com a inserção do grande epiploon. Atingindo a grande curvatura, na zona de transição entre o fundo e o corpo, a artéria gastro-omental esquerda estende-se entre o baço e a região pilórica. Ao longo do seu trajeto, fornece um número variável de ramos parietais (oito a doze) que dela se destacam em ângulo reto (*rami gastrici*), a espaços regulares, distribuindo-se às paredes gástricas, com frequência nem sempre idêntica, dado que a parede anterior tende a possuir maior número de colaterais. Estes ramos colaterais, mais curtos que os congêneres da artéria gástrica esquerda são, relativamente, paralelos entre si. Direccionam-se, de modo centrípeto, para a pequena curvatura.

A área de influência vascular assegurada pelos ramos parietais da artéria gastro-omental esquerda é, proporcionalmente, menor do que a vascularizada pelos ramos da artéria gástrica esquerda, restringindo-se à zona limítrofe da grande curvatura, o que equivale a cerca de 20% a 30% da superfície parietal do estômago. A subdivisão dos ramos parietais origina colaterais secundários, penetrantes e serosos, que apresentam um modelo de distribuição vascular sobreponível ao descrito para os ramos homólogos da artéria gástrica esquerda. As artérias serosas terminam anastomosando-se com ramos de igual calibre, tanto entre si, como com colaterais oriundos da artéria gástrica esquerda, conforme, anteriormente, referido.

Vasos curtos gástricos

A artéria esplénica fornece ramos esplénicos ao baço, assim como os vasos curtos gástricos (*Aa gastricae breves*) à grande curvatura e fundo gástricos. Na parede gástrica, os vasos curtos possuem calibre, trajeto seroso e bifurcação dicotômica equivalentes aos colaterais das artérias gástrica esquerda e gastro-omental esquerda, com as quais se relacionam através de anastomoses serosas, entre colaterais vizinhos e entre artérias terminais. Os vasos curtos gástricos são em número reduzido e variável (média de dois a quatro); porém, podem ser, surpreendentemente, compridos, apresentando duas ou três gerações de bifurcações serosas e, assim, aceder até próximo do bordo oposto, onde terminam por anastomose com colaterais da artéria gástrica esquerda. Equivalendo a cerca de 8% da superfície parietal do estômago, a área de influência vascular assegurada pelos vasos curtos gástricos inclui o fundo gástrico e a porção proximal do corpo, através das anastomoses estabelecidas com os congêneres da artéria gastro-omental esquerda.



Figura 11 – Vascularização da parede gástrica posterior; diafanização

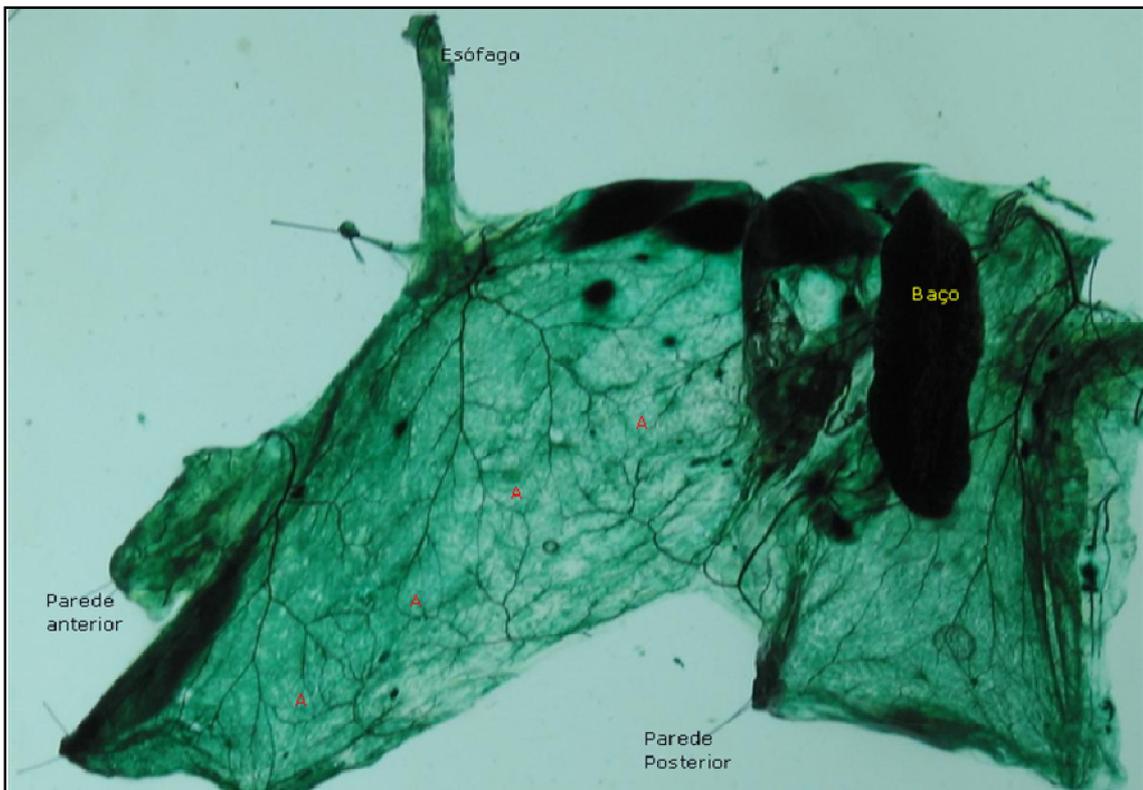


Figura 12 – Plexo seroso, anastomoses (A) entre a artéria gástrica esquerda e ramos de calibre idêntico, mas de 2ª ou 3ª ordem, da artéria gastrepilórica; diafanização



Figura 13 – Anastomoses arteriais serosas (A); ampliação com lupa estereoscópica



Figura 14 – Antro, vaso reto entre a artéria serosa e a mucosa

Anastomoses arteriais

A morfologia vascular arterial é similar no fundo, corpo, antro e piloro das duas superfícies parietais (Figuras 8, 9 e 11). Na proximidade da grande curvatura, os ramos de quarta ou de quinta ordem de divisão da artéria gástrica esquerda estabelecem anastomoses com ramos de calibre idêntico, mas de segunda ou terceira ordem, da artéria gastro-omental esquerda e/ou dos vasos curtos gástricos (Figuras 10, 11 e 12). O fundo gástrico, no entanto, pode apresentar como singularidade a existência de anastomoses entre os colaterais proximais dos ramos parietais superiores, anterior e posterior da artéria gástrica esquerda. É expressiva a riqueza de anastomoses serosas parietais gástricas. Atribuo às artérias serosas, de ordem anastomótica, a existência de uma especificidade funcional própria. De facto, uma anastomose arterial possibilita a gestão setorial do fluxo circulatório entre ramos afins, em função da respetiva origem e de acordo com as necessidades fisiológicas locais.

Artérias parietais penetrantes

As artérias serosas comunicam com o plexo intramural situado entre a camada *muscular propria* e a mucosa, por meio de artérias parietais penetrantes ou vasos retos (Figura 13). Depois de perfurarem a camada *muscular propria*, os vasos retos dividem-se em ramos irradiantes que atingem o plexo intramural (Figura 14).

Resumo

Na cobaia, a artéria gástrica esquerda tem origem na artéria *gastrolienalis*, ramo do tronco celíaco-mesentérico. Os seus ramos parietais não se estendem à grande curvatura, mas fornecem 70% a 80% das paredes gástricas, através de uma rica rede arterial serosa, cujas artérias penetrantes fornecem a zona glandular do órgão.

Em consequência da extensão da artéria gástrica esquerda para o duodeno, a artéria gástrica direita está ausente na pequena curvatura, é muito pequena e acaba por irrigar o duodeno. No entanto, por vezes, fornece ramos à pequena curvatura. A artéria gastro-omental esquerda, que domina a maior parte da grande curvatura, fornece a parede gástrica através dos *rami gastrici*, estendendo-se do baço ao piloro, onde se anastomosa com uma artéria gastro-omental direita que é muito pequena

Os vasos curtos gástricos dirigem-se ao fundo gástrico. Exibem trajeto seroso, de dimensão variável, e um modo de distribuição sobreponível ao das artérias gástrica esquerda e gastro-omental esquerda.

Na cobaia parte do plexo intramural está incorporado na *muscularis mucosae*. Tal organização sugere que a *muscularis mucosae* possa desempenhar uma função reguladora, influenciando o fluxo sanguíneo dentro destes vasos. Por exemplo, se a contração da *muscularis mucosae* obstruir o fluxo sanguíneo dos vasos nela embutidos, modulará a circulação regional da mucosa.

Microangioarquitetura do estômago da cobaia por microscopia eletrônica de varrimento de moldes de corrosão vascular

Preâmbulo

A camada serosa é fornecida e drenada pelos grandes vasos extraparietais sendo a vascularização constituída por artérias e veias, com numerosas anastomoses arteriais e venosas.

As artérias e os seus ramos tributários não penetrantes formam um sistema organizado de canais que se sobrepõem e entrelaçam, o *plexo seroso arterial*, segundo um padrão constante e, facilmente, identificável, de ramos de primeira ordem (44,3 a 226 micron de diâmetro), Tabela 40. Os seus ramos subsidiários penetrantes incorporam-se na parede gástrica a vascularizam-na (Figuras 15 e 16).

Região gástrica	Calibre das artérias serosas (micron)	
	Antes da bifurcação	Após bifurcação
Cárdia	132 - 226	58,3 – 71,5
Fundo	73,6 - 102	58,5 – 62,8
Corpo	81,4 - 160	74,9
Antro - Píloro	73,7 - 105	44,3 - 83

Tabela 40 – Calibre das artérias serosas do estômago da cobaia por região gástrica.

A microangioarquitetura arteriolar intraparietal gástrica, designadamente, a do plexo mucoso, apresentou-se semelhante nas diversas áreas do estômago da cobaia. Esta observação colocou em causa o conceito, por vezes referido na literatura, acerca da existência de dois tipos de mucosa – glandular e não glandular – no estômago da cobaia. A ausência de glândulas, numa putativa zona não glandular, seria uma diferença histológica major, passível de condicionar uma variação ajustada da microangioarquitetura, mais consentânea com uma eventual função fisiológica de armazenamento e de auxílio mecânico na digestão dos alimentos. Em estudo histológico da parede gástrica, dirigido para analisar tal facto, verifiquei que toda a mucosa do estômago da *Cavia Porcellus* é glandular, conforme com a constância microvascular, previamente, observada.

Dissecando seções dos moldes microvasculares da parede gástrica de cada região do estômago da cobaia, refiro as dimensões e as particularidades relativas à espessura parietal, à microangioarquitetura arteriolar das camadas da parede e às glândulas gástricas.

Espessura parietal

Definindo espessura parietal como a distância entre a artéria serosa e a rede arteriolar mucosa, obtive valores variáveis, entre 242 e 518 micron, consoante a região do estômago, Tabela 41, sendo o comprimento microvascular parietal de cada região

proporcional à respetiva grossura da parede. Comparando, o fundo tende a ser 45% menos espesso que o corpo e o antro (Figura 17).

Região gástrica	Espessura parietal (mícron)
Fundo	269
Cárdia	378
Corpo	242 – 518
Antro -Píloro	414 - 490

Tabela 41 – Espessura parietal do estômago da cobaia por região gástrica

Na espessura parietal existem detalhes da microangioarquitetura e das estruturas não vasculares que me possibilitaram estratificar a angiodisposição no molde microvascular, estabelecer paralelismo com as camadas histológicas da parede gástrica e deprender o seu relativo contributo no fornecimento sanguíneo. Por exemplo, a Figura 18 mostra um excerto de parede antral (maceração parcial) em cuja espessura (490 mícron) se observa a organização microvascular e a presença de glândulas gástricas. O intervalo entre a artéria serosa e a bifurcação do *vaso reto* corresponde à camada muscular (169 mícron). A distância entre a bifurcação do *vaso reto* e a sua terminação na rede arteriolar mucosa, corresponde à submucosa (264 mícron). O limite inferior das glândulas gástricas (153 a 216 mícron), observáveis nesta preparação, corresponde à *muscularis mucosae*.

Vasos retos

Das artérias serosas desprendem-se ramos subsidiários, os vasos retos, de segunda ordem (40,5 a 70,1 mícron de diâmetro), penetrantes, que se introduzem e fornecem a parede gástrica. Os vasos retos são artérias intraparietais que se destacam das artérias serosas a distâncias variáveis (203 a 255 mícron, no antro) e, atravessando as camadas da parede gástrica, estabelecem comunicação entre a sua origem serosa e o seu termo no plexo mucoso, que ajudam a formar. No seu trajeto, trespassam a *muscular propria* e bifurcam-se ao chegarem à submucosa.

Na submucosa, cada ramo de subdivisão evidencia diminuição progressiva de calibre (entre 20 e 25%) até finalizar em ramos terminais irradiantes, de terceira ordem (5 a 10 mícron de diâmetro), que se anastomosam com os homólogos para constituir uma malha arteriolar, o plexo mucoso (Figura 19).

Os vasos retos constituem o esteio vascular da malha arteriolar mucosa. Devem a sua designação ao porte retilíneo que ostentam, desde a origem serosa até ao término mucoso, o qual, de perfil, sugere o de um pilar de sustentação de alpendre (Figura 20). Sobre a adventícia da base dos vasos retos observam-se, por vezes, marcas circulares, semelhantes a coluna de pratos, que poderão significar um efeito de cunhagem vascular causado pela tensão exercida pelas camadas circundantes da *muscular propria* (Figura 21).

A importância vascular dos vasos retos intui-se pelas suas dimensões – diâmetro, Tabela 42, e comprimento, Tabela 43 – e, pelo contributo de participação que outorgam à formação e sustentação do plexo mucoso.

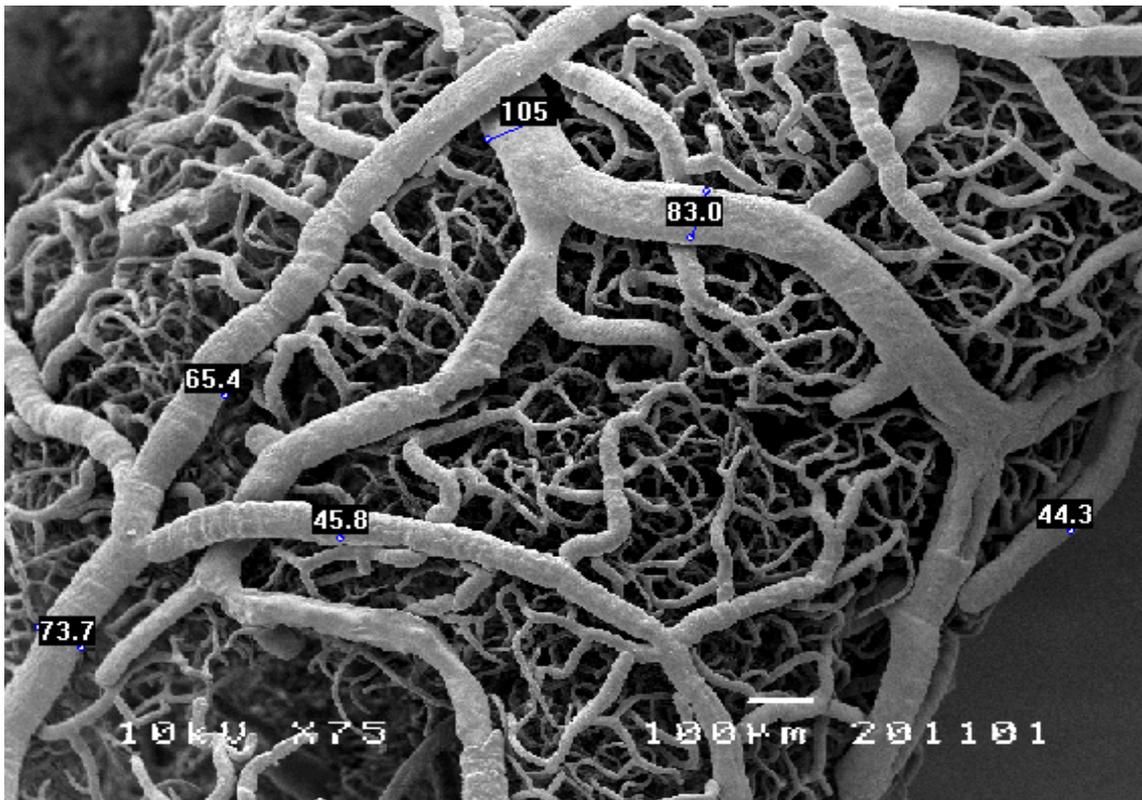


Figura 15 – Pequena curvatura, vasos serosos (1ª ordem, 44 a 150 µm)

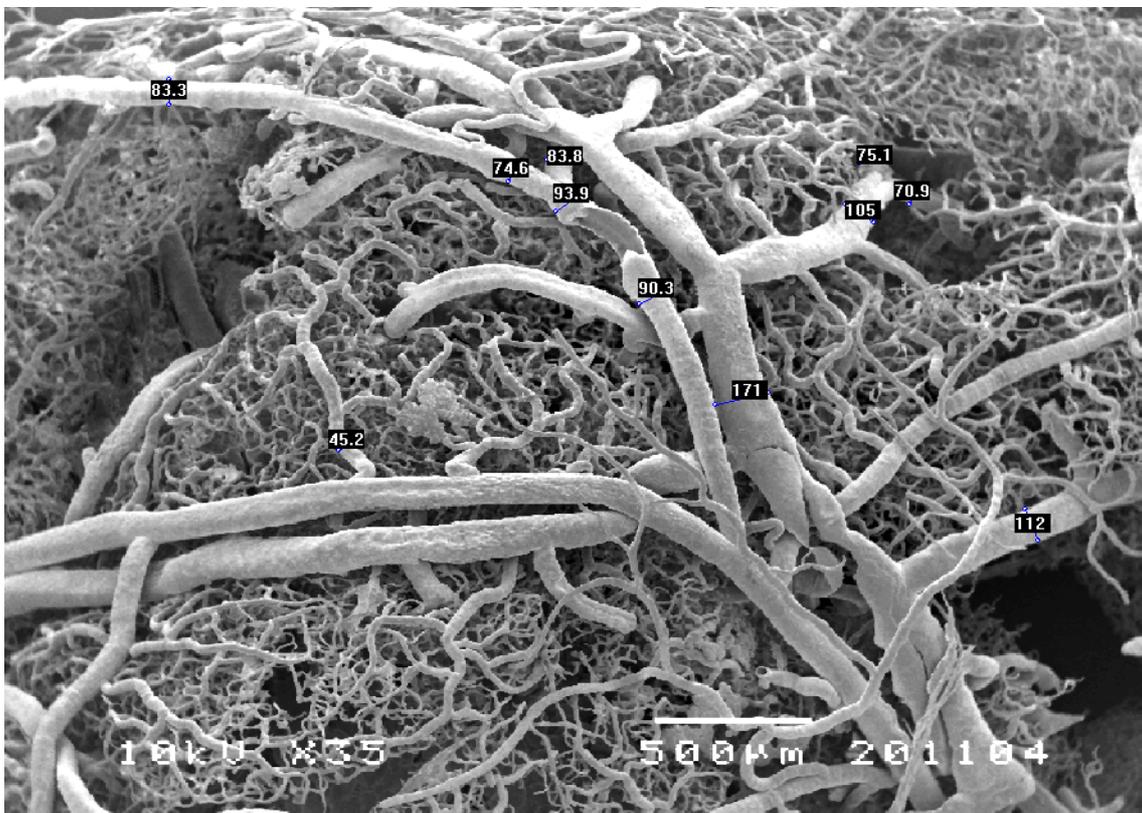


Figura 16 – Grande curvatura, vasos serosos (1ª ordem, 70,9 a 171 µm)

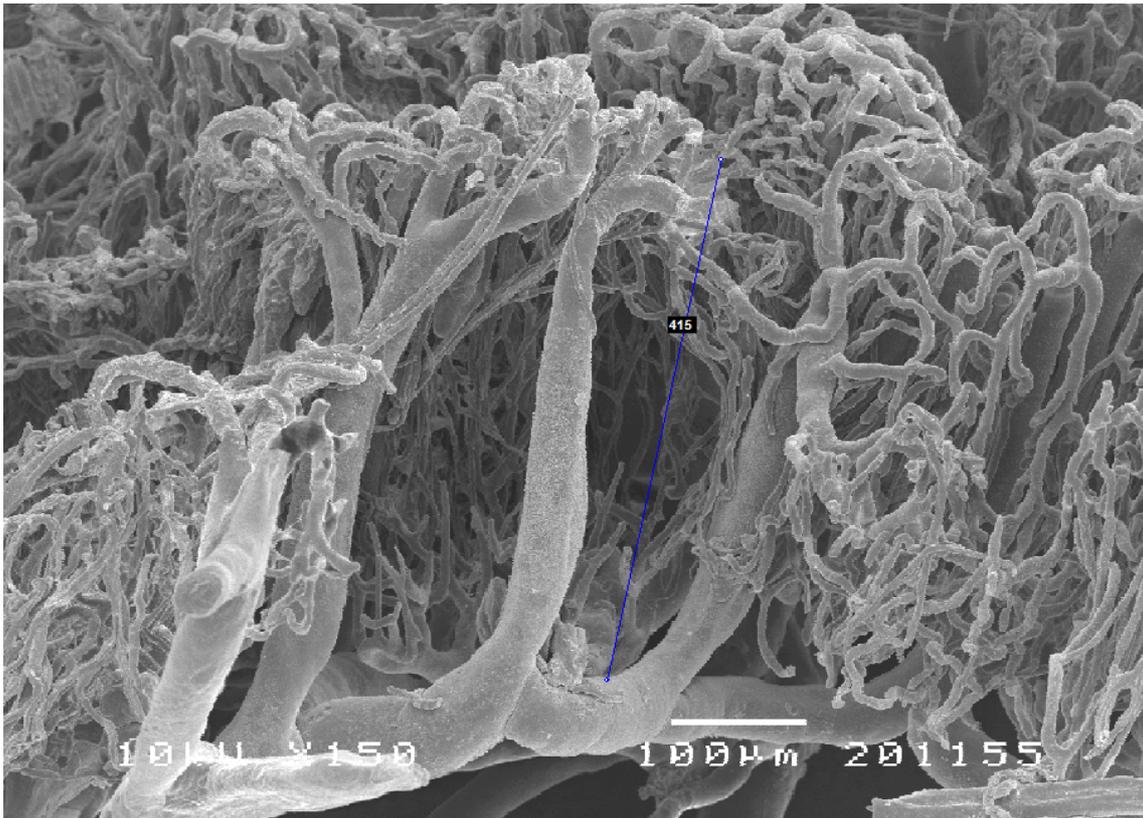


Figura 17 – Antro, espessura parietal (415 µm)

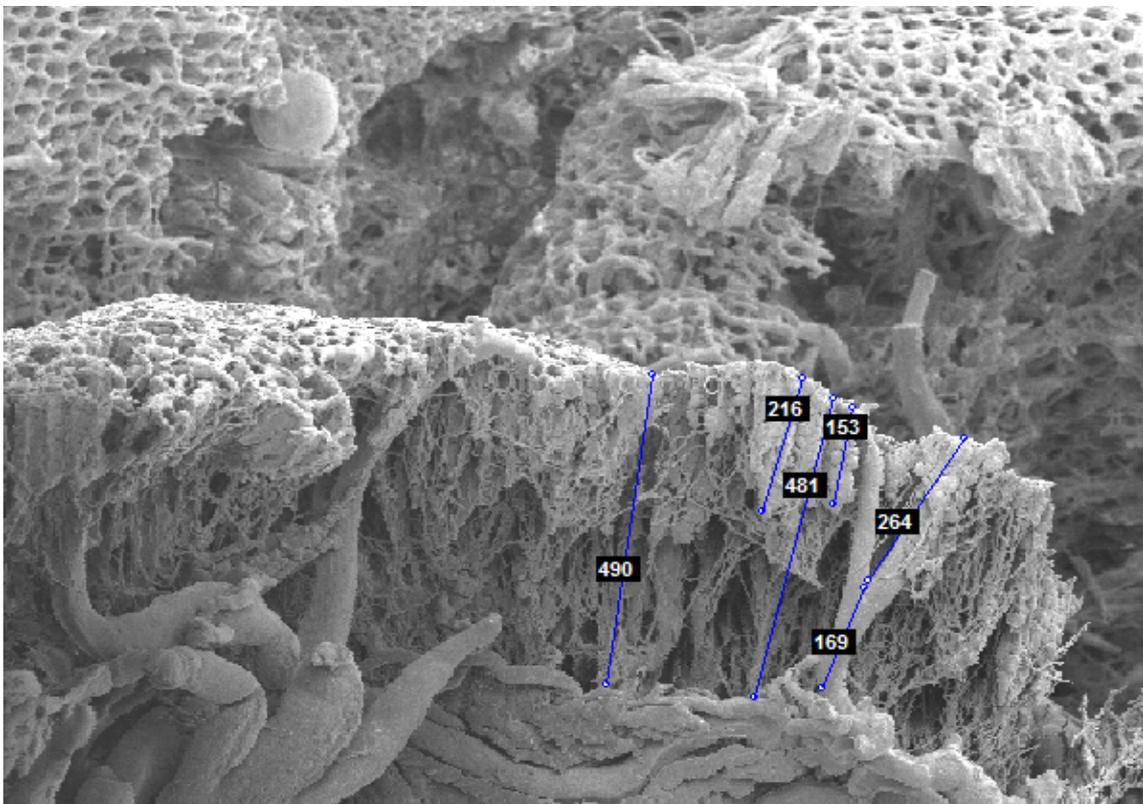


Figura 18 – Antro, camadas da parede; referências vasculares

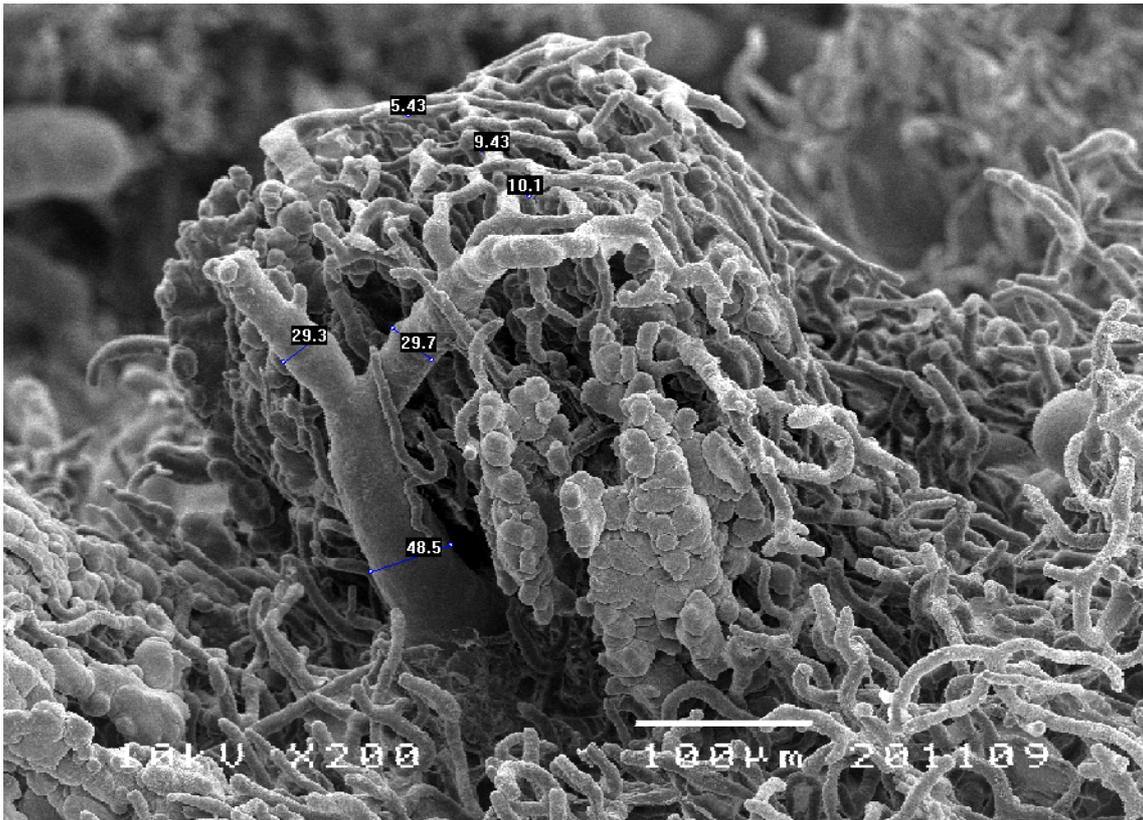


Figura 19 – Grande curvatura, vaso reto (2ª ordem; 44,5 μm) e plexo submucoso

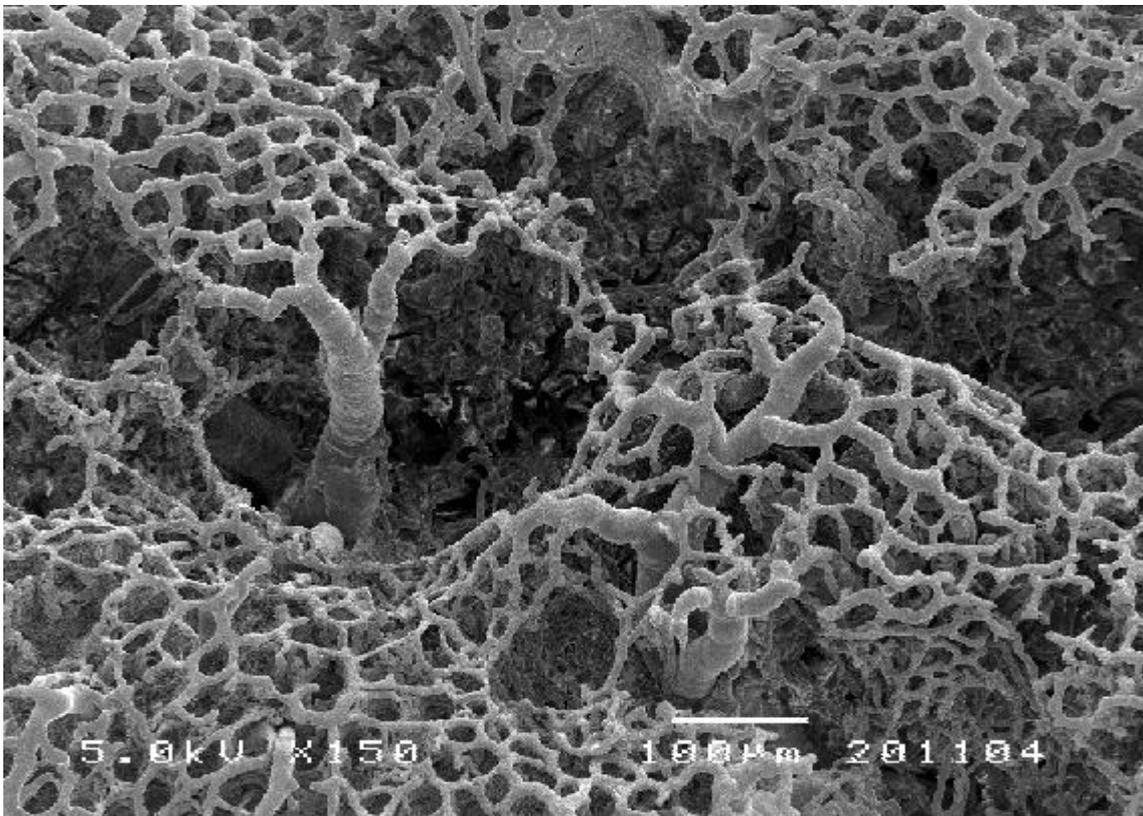


Figura 20 – Grande curvatura, vaso reto; contributo para a malha subepitelial mucosa

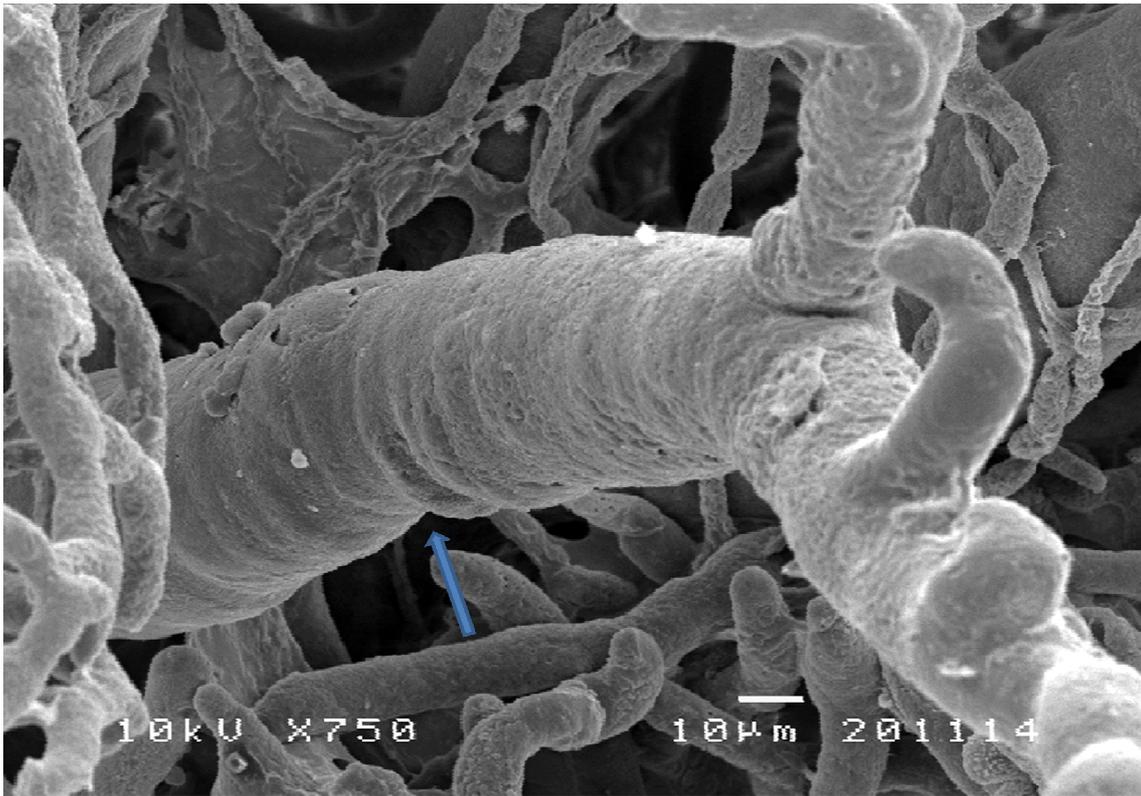


Figura 21 – Grande curvatura, impressões musculares circunferenciais na adventícia da base de um vaso reto

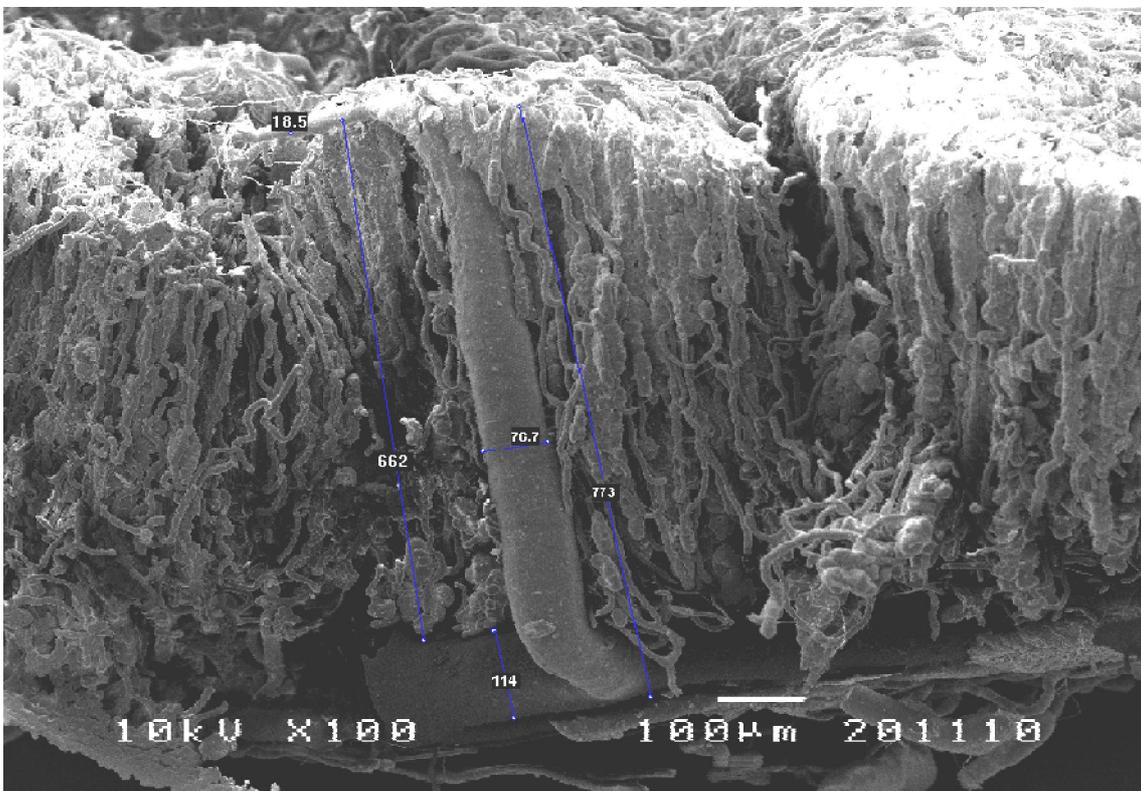


Figura 22 – Corpo, espessura da parede gástrica; vaso reto

Plexos arteriolares: muscular e submucoso

A vascularização da camada *muscular propria* é assegurada pelos ramos penetrantes, de segunda e terceira ordem (6,53 a 7,84 micron), oriundos do plexo seroso. Em conjunto, as duas camadas musculares integrantes – externa, *de disposição longitudinal*, e interna, *de disposição oblíqua* – albergam um plexo arteriolar muscular, que se relaciona e continua com o plexo submucoso.

O plexo submucoso apresenta-se denso e constituído por arteríolas de terceira ordem, (3,5 a 10 micron) dispostas entre a camada muscular de que depende e o plexo mucoso que fornece, Tabela 42. Estabelecendo anastomoses entre si, as arteríolas do plexo submucoso possuem um comprimento variável, consoante a região gástrica, Tabela 43. Asseguram o fornecimento sanguíneo às estruturas contíguas e contribuem para a formação do plexo mucoso (Figura 22).

Região gástrica	Calibre arteriolar intraparietal (micron)				
	Vaso reto (base)	Vaso reto (topo)	Vaso reto (ramos)	Plexo submucoso	Plexo mucoso
Cárdia	55,8	76,1	21,4 – 48,9	4,65 – 9,33	6,9 – 9,9
Fundo	59,7 – 69,8	43,5 – 69,8	16,1 – 32,2	4,62 – 10,1	3,65 – 22,8
Corpo	28,6 – 61,7	24,4 – 40,1	15,4 – 40,6	3,50 – 6,80	4,71 – 11,7
Antro - Píloro	40,5 – 62,3	35,9 - 54	27,7 – 33,8	3,57 – 5,33	5,18 – 14,2

Tabela 42 – Calibres arteriolares intraparietais por região do estômago da cobaia

Região gástrica	Comprimento arteriolar intraparietal gástrico (micron)				
	Vaso reto (base-bifurcação)	Vaso reto (bifurcação topo)	Vaso reto (ramos)	Plexo submucoso	Plexo mucoso
Cárdia	93,6 – 151	140 – 213	212	212	31,8 – 51,6
Fundo	111 – 148	129 – 155	155	137 – 197	25,8 – 38
Corpo	271 (em 492)	215	215	215	26,4 – 33
Antro - Píloro	43,3 – 112	114 – 165	157 – 163	271 – 314	15,3 – 30

Tabela 43 – Comprimentos arteriolares intraparietais por região do estômago da cobaia

Os capilares, que fornecem as glândulas gástricas, serpenteiam, longitudinalmente, na *lamina propria*, entre a *muscularis mucosae* e o plexo mucoso, que ajudam a formar e com a qual interagem.

Plexo mucoso

Os ramos terminais dos vasos retos e as ramificações procedentes do plexo arteriolar submucoso anastomosam-se entre si e terminam na malha arteriolar mucosa, de

capilares de terceira ordem (5,18 a 14,2 microm), o plexo mucoso, que lembra um favo (Figura 23).

Glândulas gástricas

Em moldes com corrosão parcial, as glândulas gástricas têm a forma de cacho alongado e apresentam tamanhos variáveis – comprimento de 53,4 a 156 microm e largura de 24,3 a 31,5 microm. Encontram-se inseridas na tecedura microvascular submucosa, de cujo fornecimento dependem, estendendo-se entre a mucosa (colo glandular e cripta) e a *muscularis mucosae* (fundo glandular), (Figuras 24 e 25).

No lado luminal do estômago, as glândulas terminam em colo (diâmetro de 26,3 microm e espessura de 2,17 a 3,54 microm), que se assesta no espaço anelar formado pelos capilares pericrípticos da malha microvascular mucosa (Figuras 26 e 27). Na Figura 28 observam-se fragmentos do plexo mucoso e vestígios de epitélio, parcialmente, macerado e orifícios correspondentes aos colos glandulares.

O plexo arteriolar submucoso, situado entre o fundo glandular e a camada interna da *muscularis propria*, tem espessura entre 53,3 e 83 microm e é constituído por capilares com calibre entre 3,57 e 5,33 microm. Os seus capilares fornecem as glândulas gástricas, nos seus vários níveis, dispondo-se, longitudinalmente, em torno delas (Figura 24).

As arteríolas da submucosa atravessam a camada *muscularis mucosae*, alcançam a *lamina propria* e ramificam-se, formando uma rede subglandular. A partir destes vasos emergem duas redes de capilares. A primeira, em forma de novelo de capilares em torno da base das glândulas e a segunda ascendendo ao longo das glândulas (Figura 29).

Outras estruturas da parede gástrica

As áreas avasculares, existentes entre os diversos grupos capilares intramurais, correspondem às estruturas da *lamina propria* – vasculares, linfáticas, nervosas – desaparecidas, em consequência do processo de maceração.

A drenagem venosa do leito capilar da mucosa é realizada por veias de terceira ordem, que se reúnem a coletores de calibre progressivamente crescente, equivalentes aos homólogos arteriolares.

A existência de constrições vasculares, passíveis de corresponderem a esfíncteres venosos,²³³ poderá denotar a existência de um sistema organizado, com eventual efeito regulador da microcirculação. Nas áreas que fazem fronteira com as pregas da mucosa, os capilares tornam-se mais tortuosos, manifestação essa que tenderá a atenuar ou desaparecer com a distensão parietal.²³⁴

Anatomia comparada

A microangioarquitetura do antro e do piloro do coelho, estudada por microscopia ótica e por microscopia eletrónica de varrimento, apresenta morfologia semelhante.

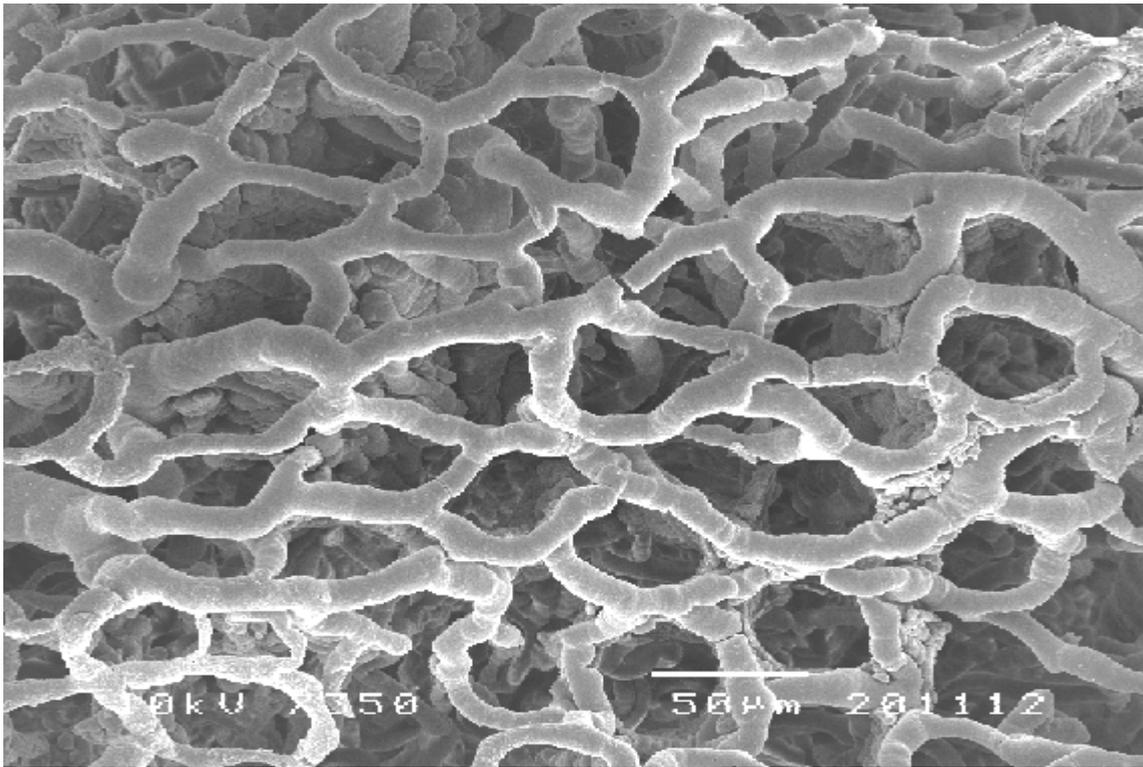


Figura 23 – Pequena curvatura, malha arteriolar mucosa

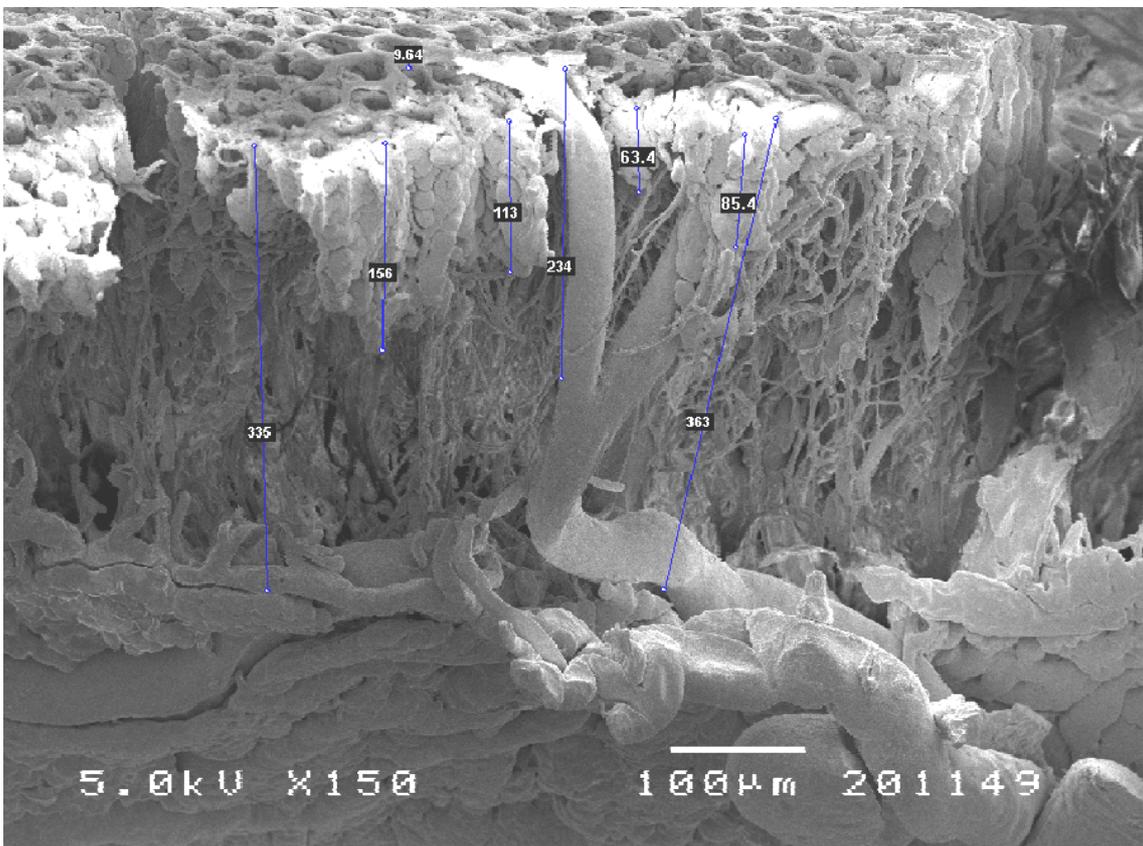


Figura 24 – Antro, glândulas gástricas; vaso reto

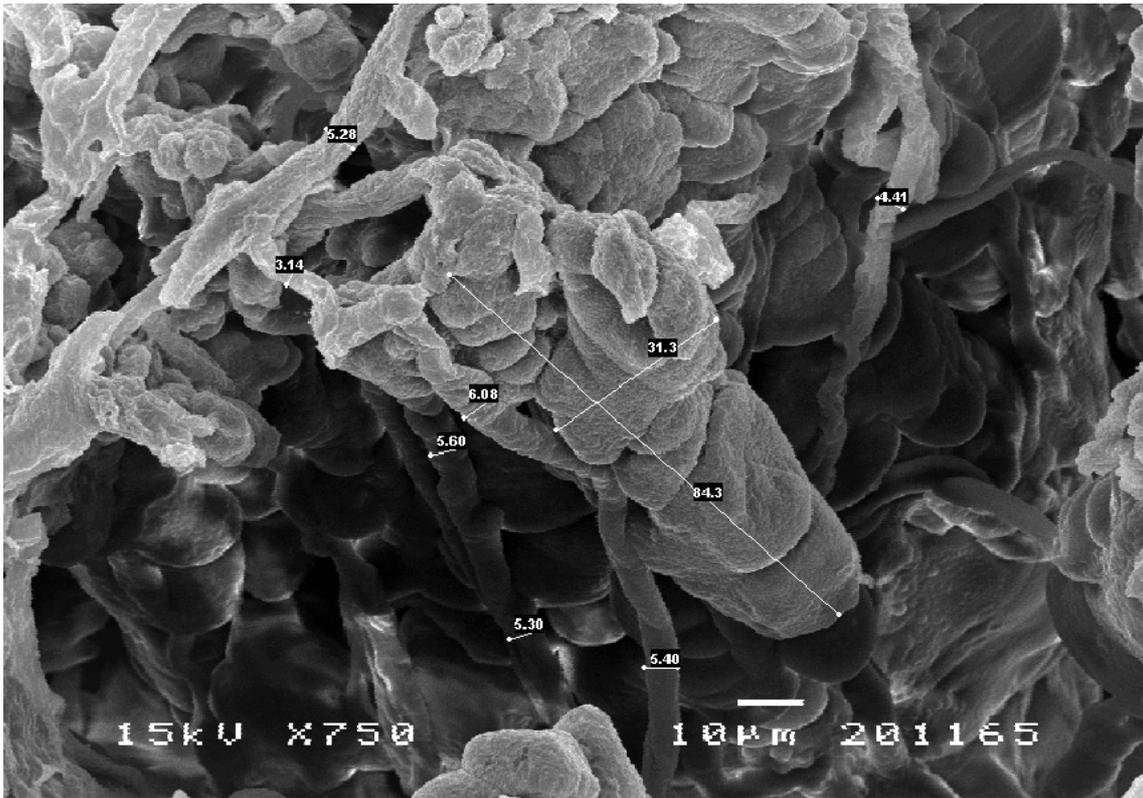


Figura 25 – Antro, glândula gástrica, maceração parcial

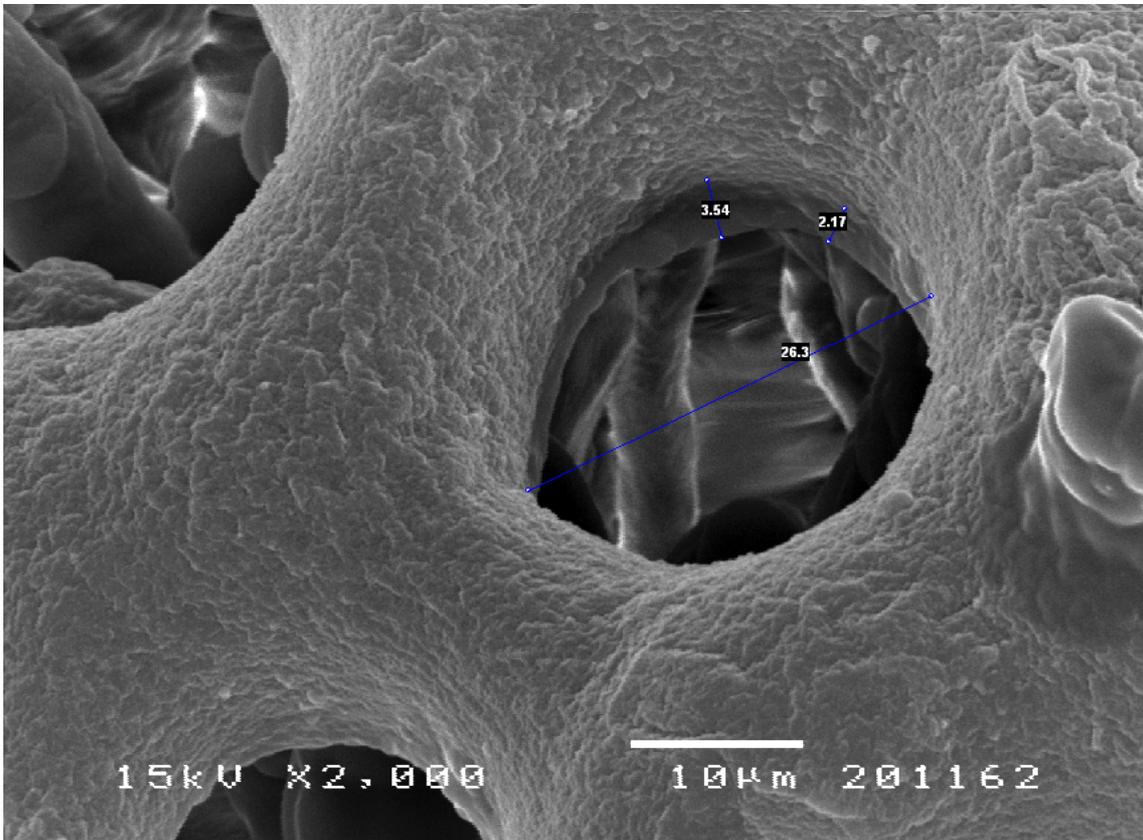


Figura 26 – Antro, orifício de cripta

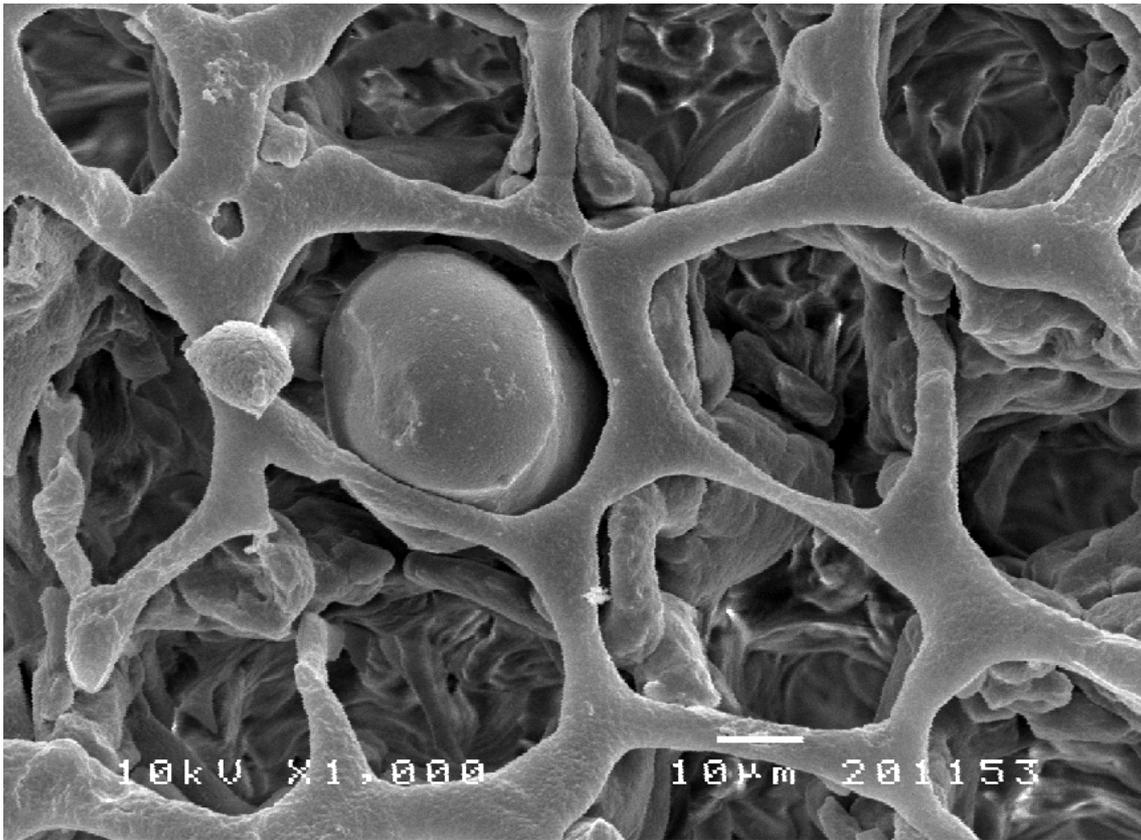


Figura 27 – Antro, plexo mucoso; criptas

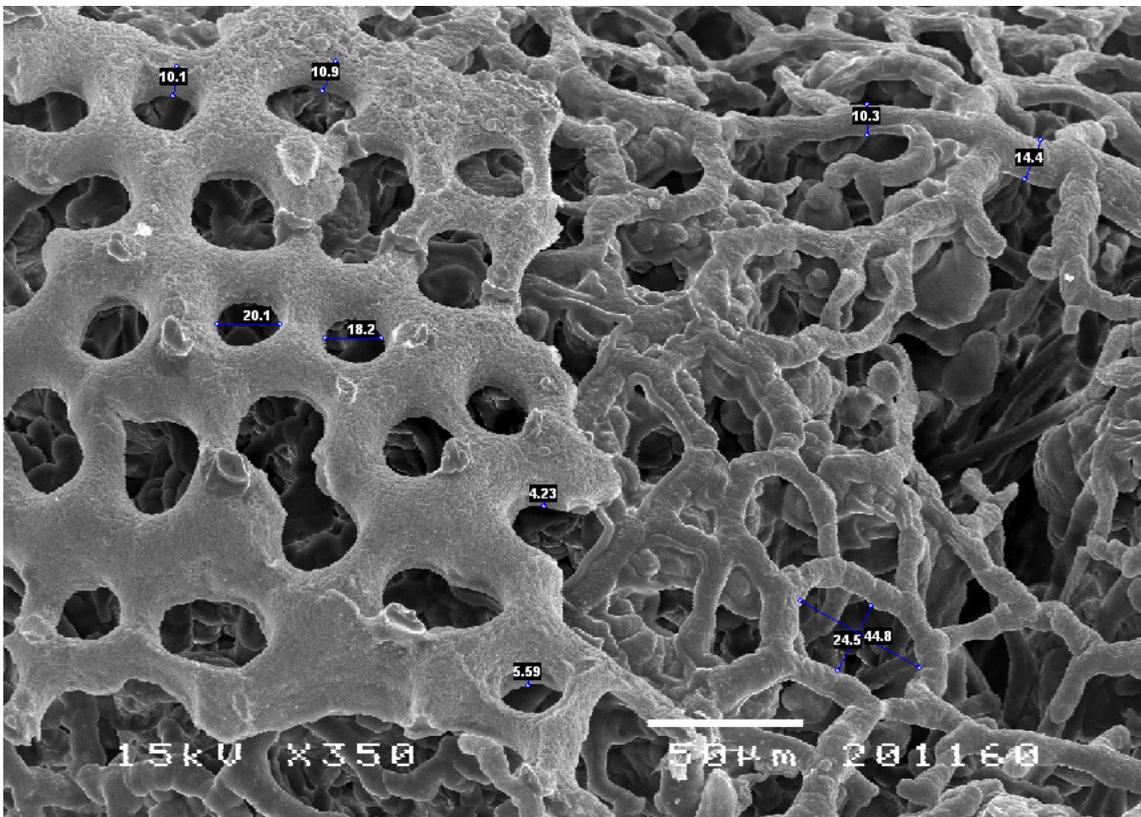


Figura 28 – Antro, plexo mucoso e criptas; maceração parcial

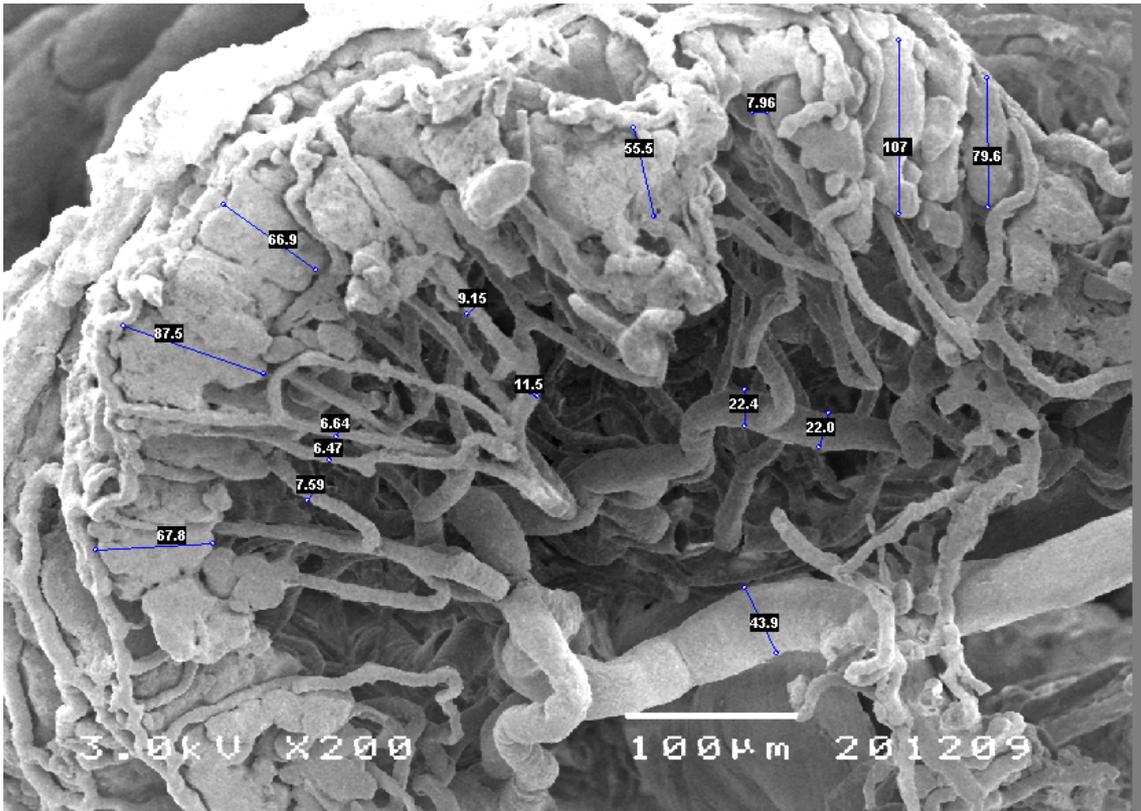


Figura 29 – Córdia, vascularização das glândulas gástricas

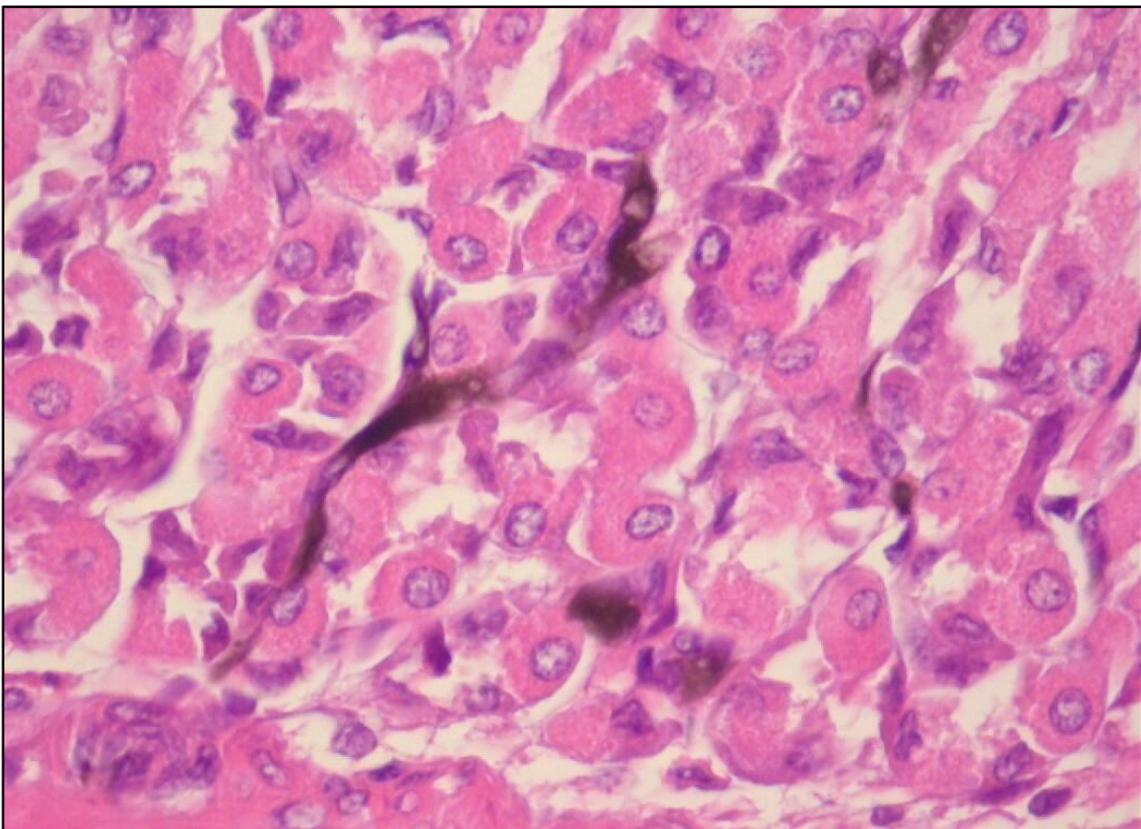


Figura 30 – Fundo, vasos da mucosa. Componente glandular, (HE, 400x)

As arteríolas da submucosa atravessam a camada *muscularis mucosae*, alcançam a *lamina propria* e ramificam-se em capilares terminais, formando uma rede subglandular. A partir destes vasos emergem duas redes de capilares. A primeira, em forma de novelo de capilares em torno da base das glândulas e a segunda, ascendendo ao longo dos túbulos glandulares. Esses capilares ascendentes também surgem diretamente de arteríolas subglandulares da lâmina própria, assim como dos capilares da parte basal dos túbulos glandulares. Os capilares formam ansas subepiteliais arqueadas de 2 a 3 vénulas coletoras que se dirigem às veias coletoras na região basal da *lamina propria*. Na mucosa, existem inúmeras anastomoses horizontais entre vénulas coletoras mas não foram observadas anastomoses arteriovenosas.²³⁵

Resumo

A vascularização arterial do estômago da cobaia é assegurada por vasos extraparietais que fornecem o plexo seroso.

O fluxo sanguíneo arterial parietal realiza-se, desde o plexo seroso, em direção à mucosa. Para o efeito, do plexo seroso destacam-se dois tipos de ramos colaterais que, atravessando a parede gástrica, participam na angiomorfologia das várias camadas histológicas do estômago – os plexos muscular, submucoso e mucoso.

Um dos tipos de ramos colaterais, os vasos retos, possuem calibre, morfologia e disposição capazes de assegurar um rápido fluxo de sangue ao plexo mucoso. O outro, formado por arteríolas, com calibre de cerca de 10% dos vasos retos, interage, sucessivamente, com os plexos muscular, submucoso e mucoso garantindo o provimento das camadas a que pertencem.

Situado entre o fundo glandular e a camada interna da *muscular propria*, os capilares periglandulares do plexo submucoso fornecem as glândulas gástricas, nos seus vários níveis, dispondo-se, longitudinalmente, em torno delas.

Os ramos terminais dos vasos retos e as ramificações procedentes do plexo arteriolar submucoso anastomosam-se entre si e terminam na malha arteriolar mucosa, formando o plexo mucoso.

Mucosa gástrica

A mucosa gástrica da cobaia é composta por epitélio cilíndrico simples, secretor de muco. A maior parte da mucosa está ocupada por invaginações das células mucosas na *lamina propria*. Essas invaginações formam cavidades ou criptas (*foveolae*) que são profundas. As glândulas estão contidas na *lamina propria*, têm forma tubular e são constituídas por epitélio secretor e pelo ducto, o canal excretor que drena para a cripta. As criptas podem receber um ou mais ductos glandulares.²³⁶ As glândulas gástricas são formadas pelas células principais que segregam pepsinogénio e por células parietais que segregam ácido clorídrico.

Existem cinco tipos celulares nas glândulas gástricas: as células estaminais no colo das glândulas, que se dividem e substituem as do epitélio superficial; as células secretoras de muco no colo da glândula; as células parietais oxínticas, que são grandes células poliédricas com núcleo central e citoplasma eosinófilo, que segregam ácido clorídrico; as células principais (zimogénicas, pépticas), que segregam pepsinogénio que é convertido em pepsina pelo ácido gástrico e as células enteroendócrinas, que constituem uma população dispersa, identificável com coloração específica com prata e que, por isso, são conhecidas como argentafins ou argirófilas. Segregam mediadores químicos (serotonina, gastrina, somatostatina, entreogluçagon) para controlo local da digestão. Estas células pertencem ao sistema celular APUD (*amine-precursor-uptake-decarboxylation*).²³⁷

No fundo gástrico, a mucosa é constituída por epitélio, *lamina propria* e *muscularis mucosae*. Dois terços da *lamina propria* são glandulares e o restante é epitélio mucoso. A *lamina propria*, ou córion, é tecido conjuntivo laxo e apenas existe na mucosa. Nesta região, a mucosa é muito espessa e glandular (Figura 30). A *muscularis mucosae* forma prega (Figura 31).

No esófago, existe menor número de glândulas (Figura 32). Todas as camadas da parede mucosa, *muscularis mucosae*, submucosa e muscular, são observáveis neste corte histológico (Figura 33). Na junção esofagogástrica da cobaia, há presença de epitélio queratinizado de superfície; facto que o ser humano não possui. É nítida a transição entre o epitélio estratificado pavimentoso esofágico e o epitélio glandular gástrico (Figura 34).

Na pequena curvatura, a mucosa é sempre glandular (Figura 35); e, uma prega, evidencia bem a *muscularis mucosae* (Figura 36). Vastos setores representativos mostram os vasos a serpentear entre as glândulas (Figuras 37 e 38).

Na região dos vasos curtos gástricos, a parede é muito mais delgada, observando-se epitélio glandular, com vasos marcados a tinta-da-china (Figura 39). A mucosa da grande curvatura é continuação da anterior, uniformemente, igual e com vasos dispostos à volta das glândulas (Figuras 40 e 41).

No corpo, existe o mesmo tipo de glândulas em toda a extensão, sendo semelhante ao fundo. A zona secretora do corpo é muito mais alta do que a do antro, havendo setores onde quase só se veem glândulas. Na *lamina propria* os vasos são bem visíveis (Figura 42) assim como a existência de *muscularis mucosae* e a presença de arteríola e de

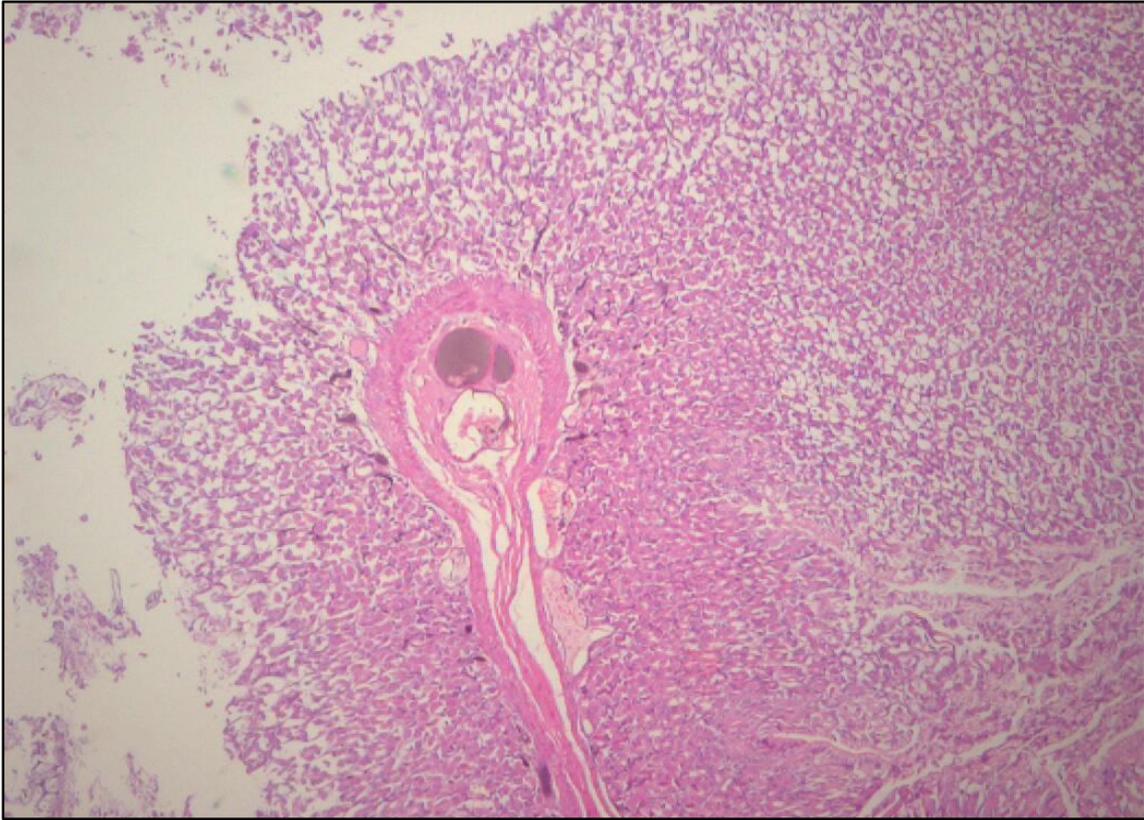


Figura 31 – Fundo, prega de *muscularis mucosae*. As pregas são sempre da *muscularis mucosae*, (HE, 40x)

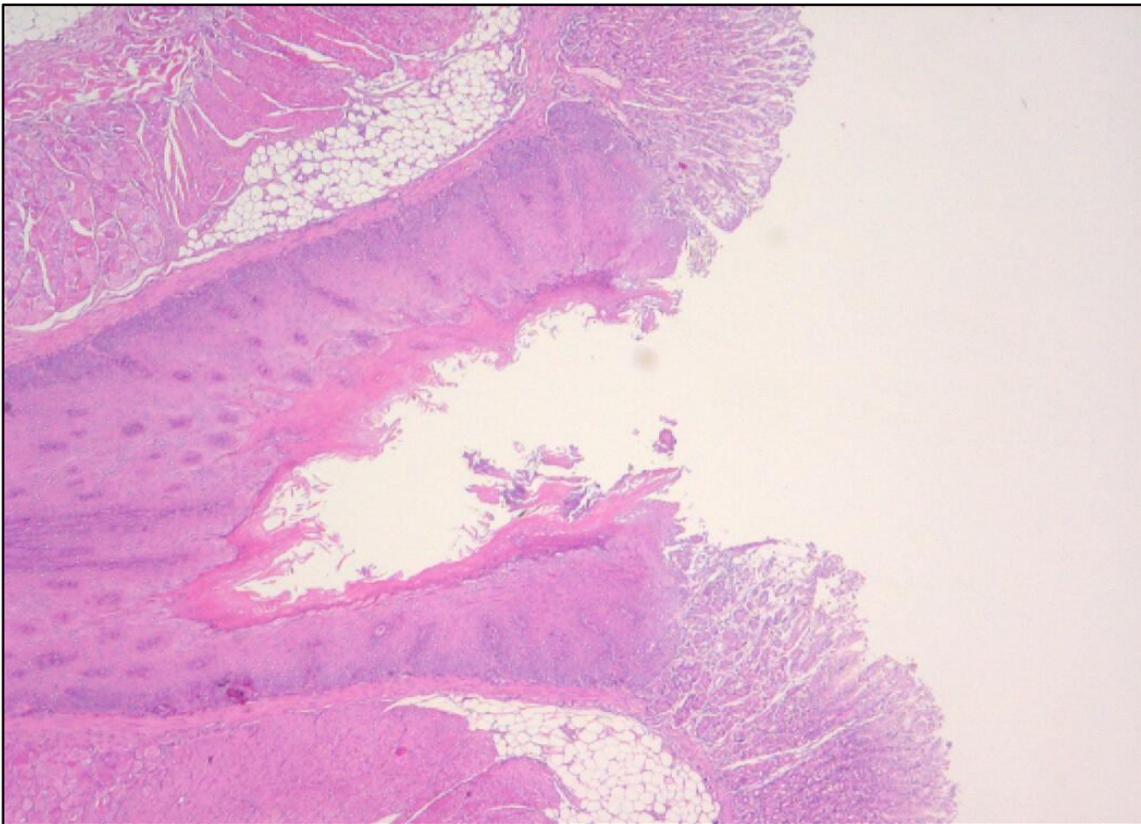


Figura 32 – Cárdia, transição entre o epitélio pavimentoso e epitélio glandular, (HE, 20x)



Figura 33 – Esófago, a mucosa praticamente sem glândulas. Córion e *muscularis mucosae*, (HE, 100x)

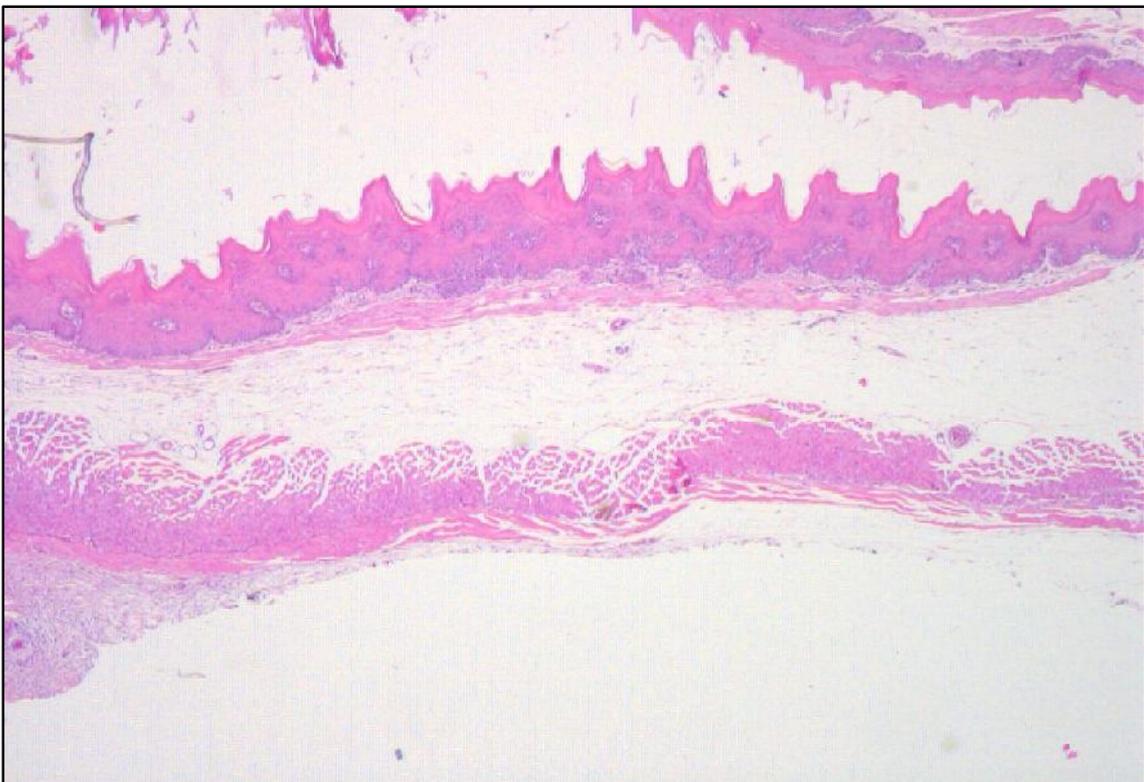


Figura 34 – Esófago, toda a parede: mucosa, *muscularis mucosae*, submucosa e muscular, (HE, 40x)

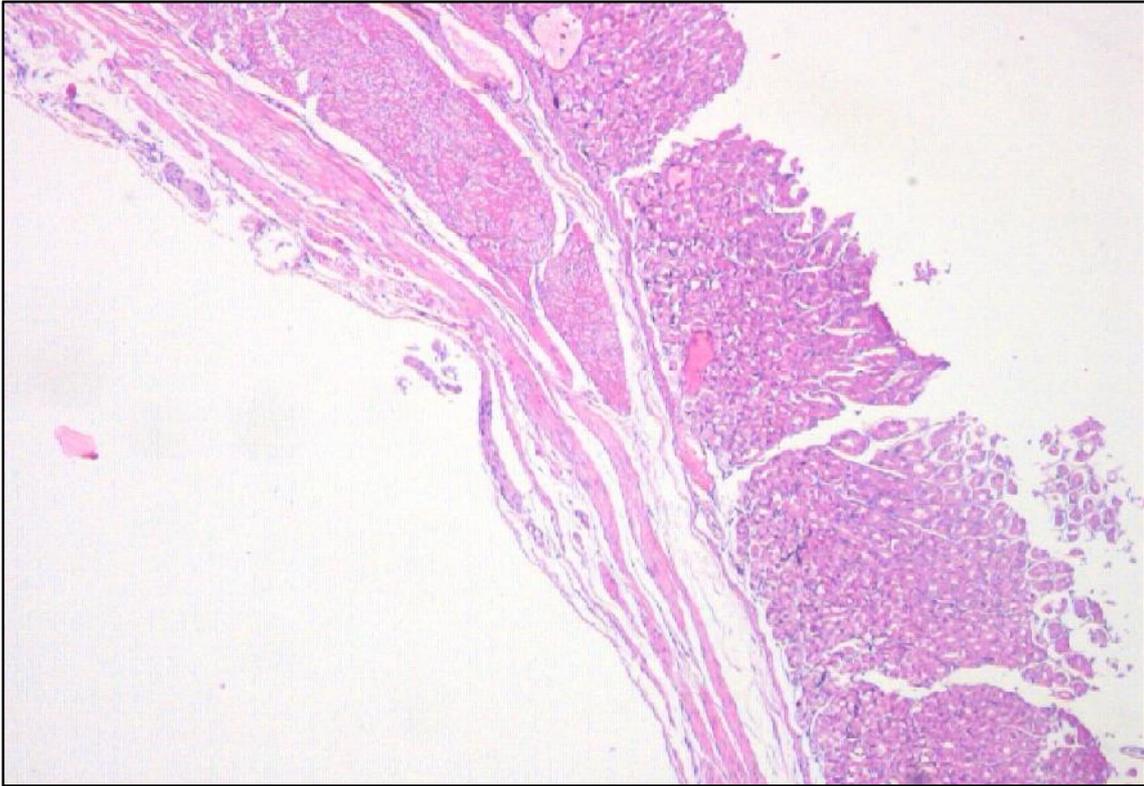


Figura 35 – Pequena curvatura, zona de transição muscular; a mucosa sempre glandular, (HE, 40x)

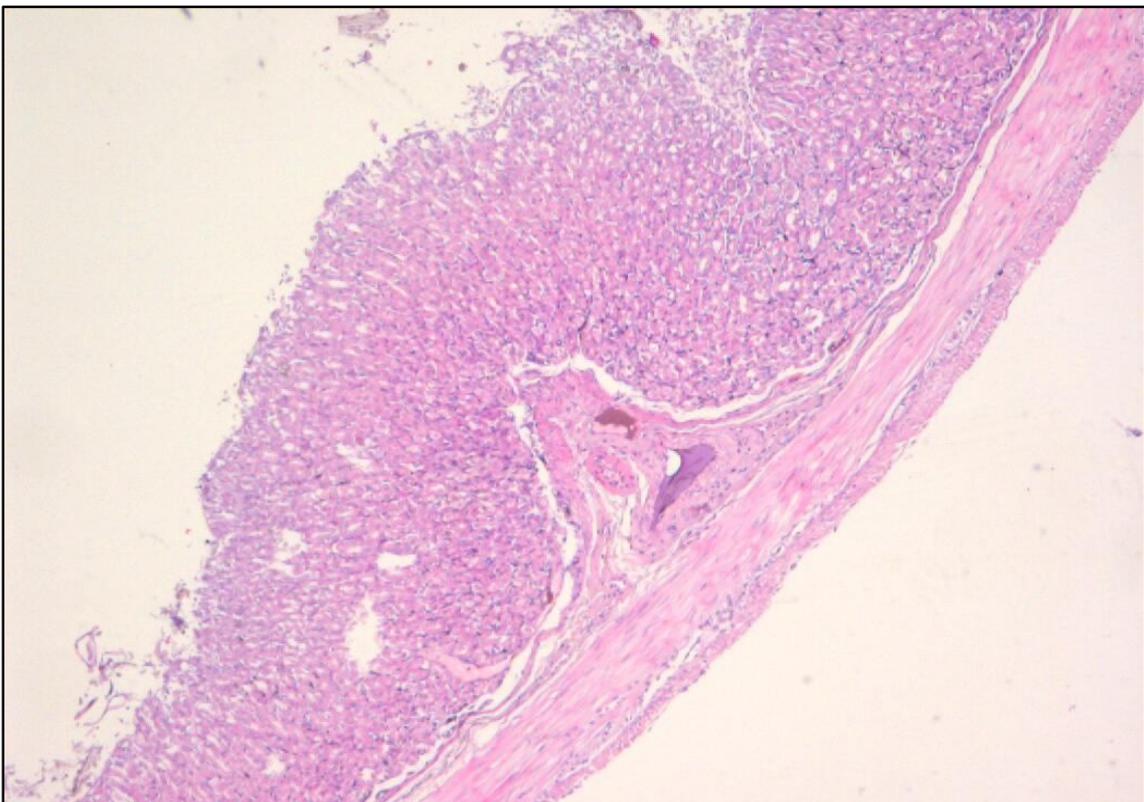


Figura 36 – Pequena curvatura. Presença de prega que evidencia bem a *muscularis mucosae*, (HE, 40x)

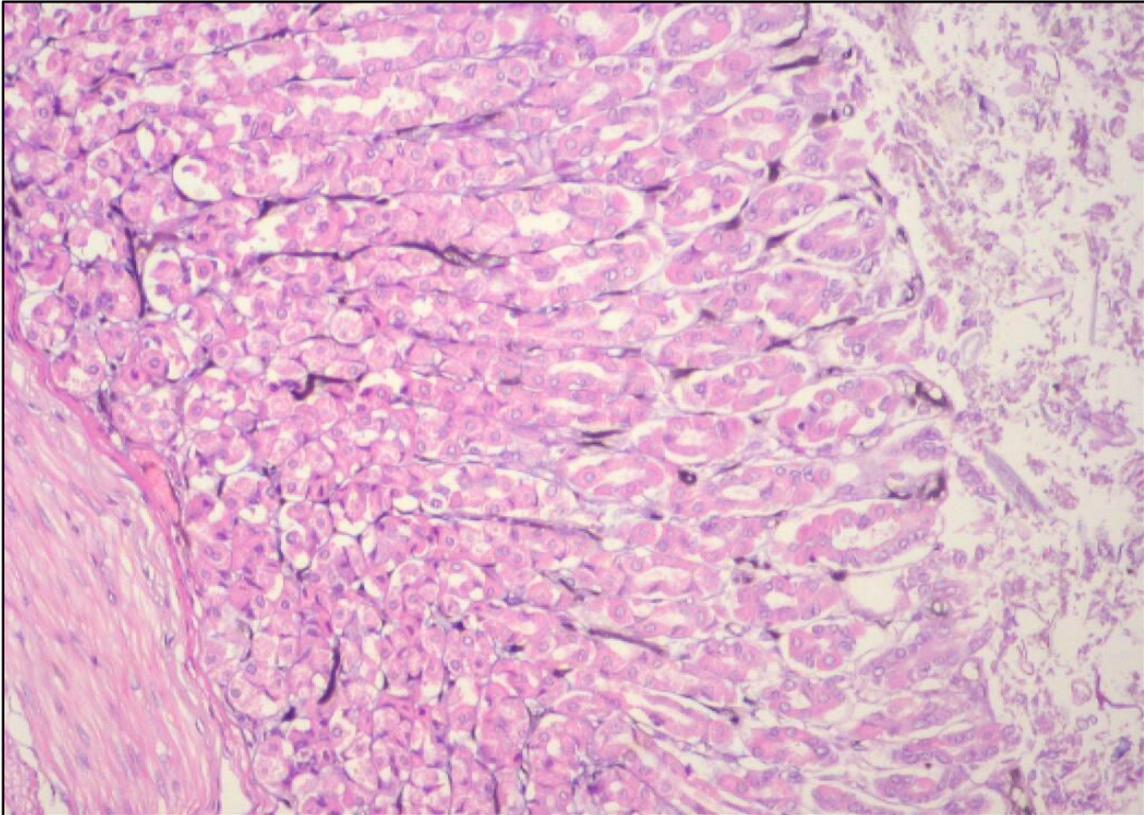


Figura 37 – Pequena curvatura, vasos a serpentear entre as glândulas, (HE, 100x)

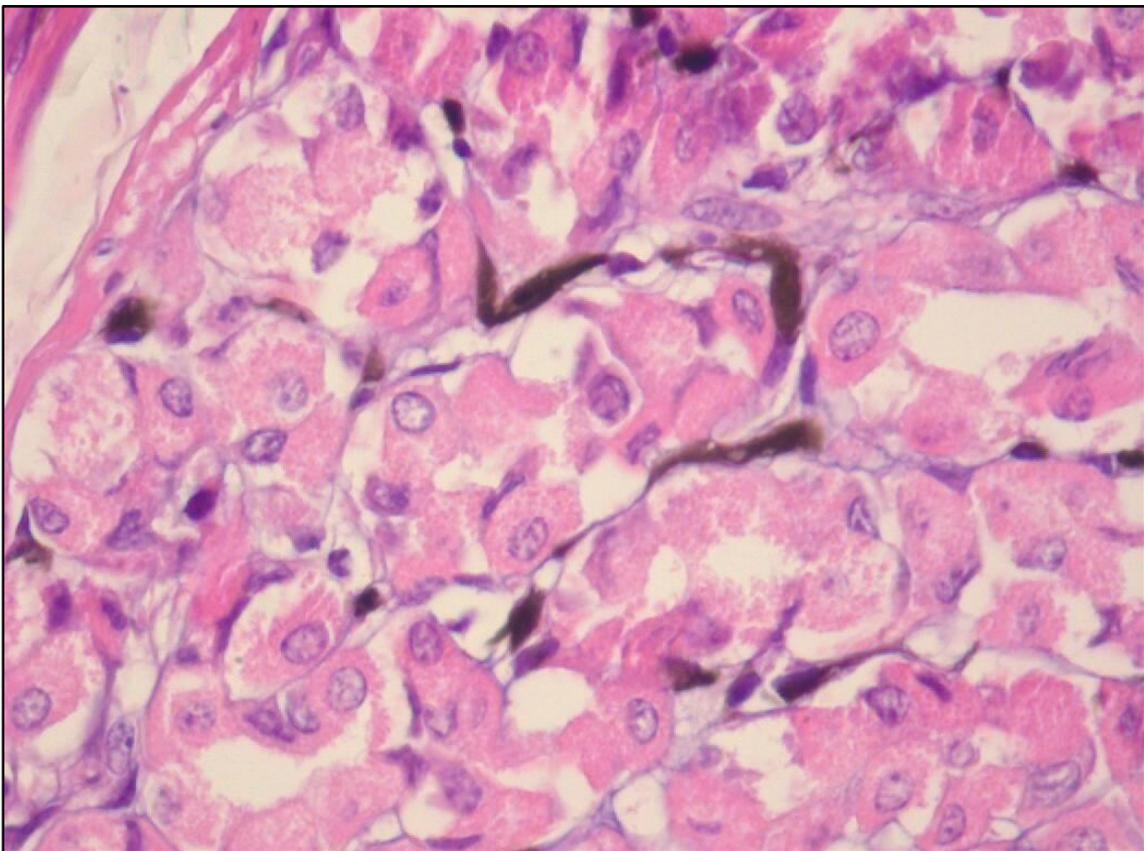


Figura 38 – Pequena curvatura, secção de várias glândulas gástricas, (HE, 400x)

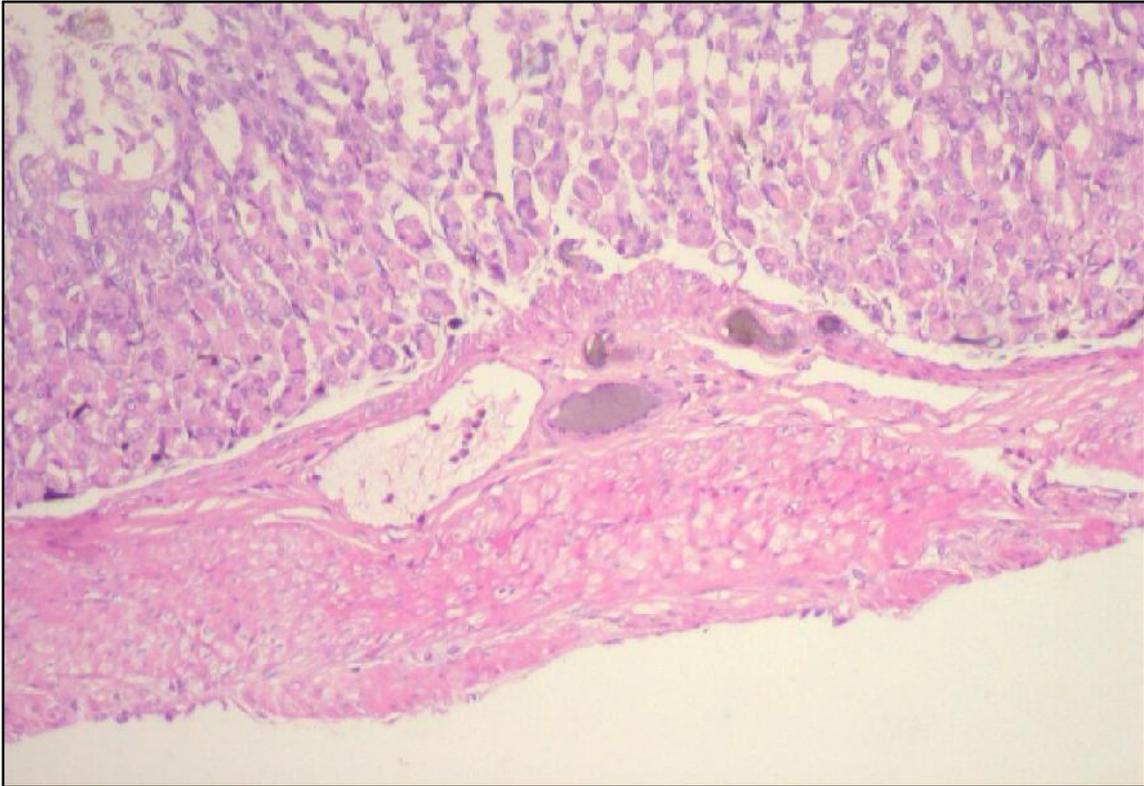


Figura 39 – grande curvatura, praticamente não existe submucosa; no entanto observa-se um grande vaso em área submucosa. *Muscularis mucosae* bem visível, (HE, 100x)

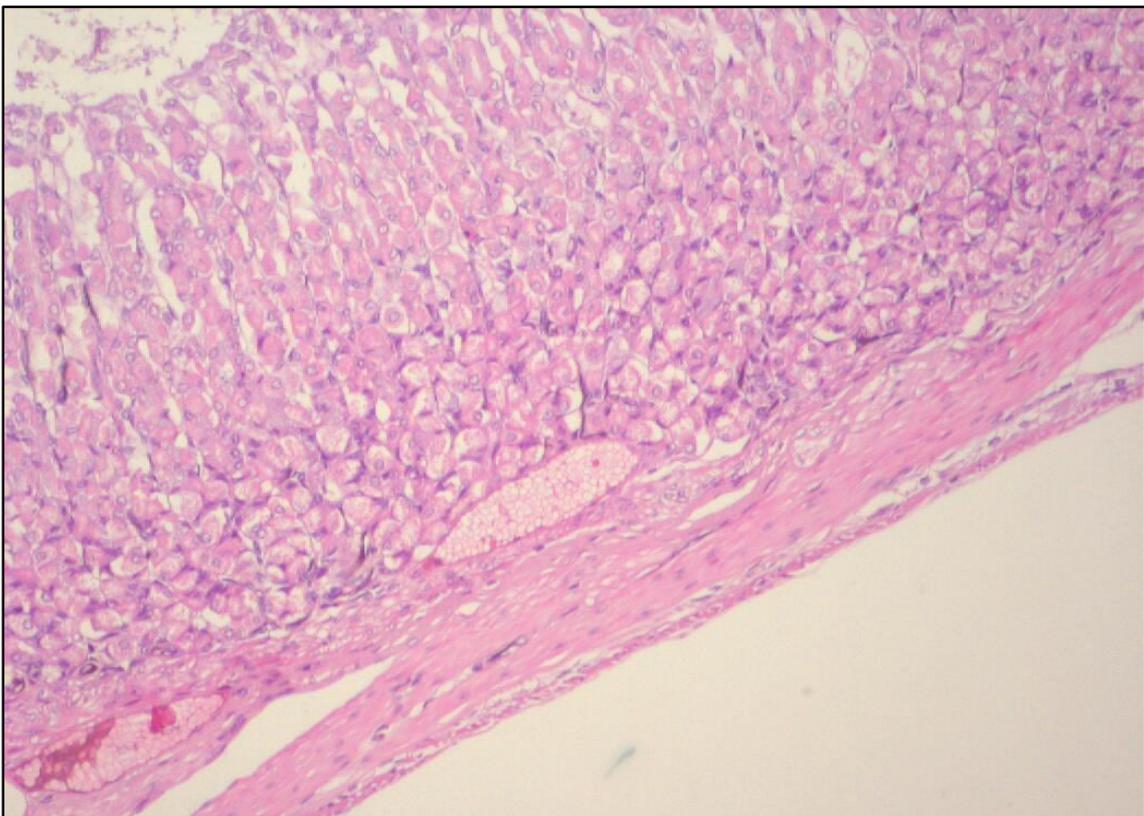


Figura 40 – Grande curvatura, vasos à volta das glândulas desde baixo (esquerda) até cima (direita), (HE, 100x)

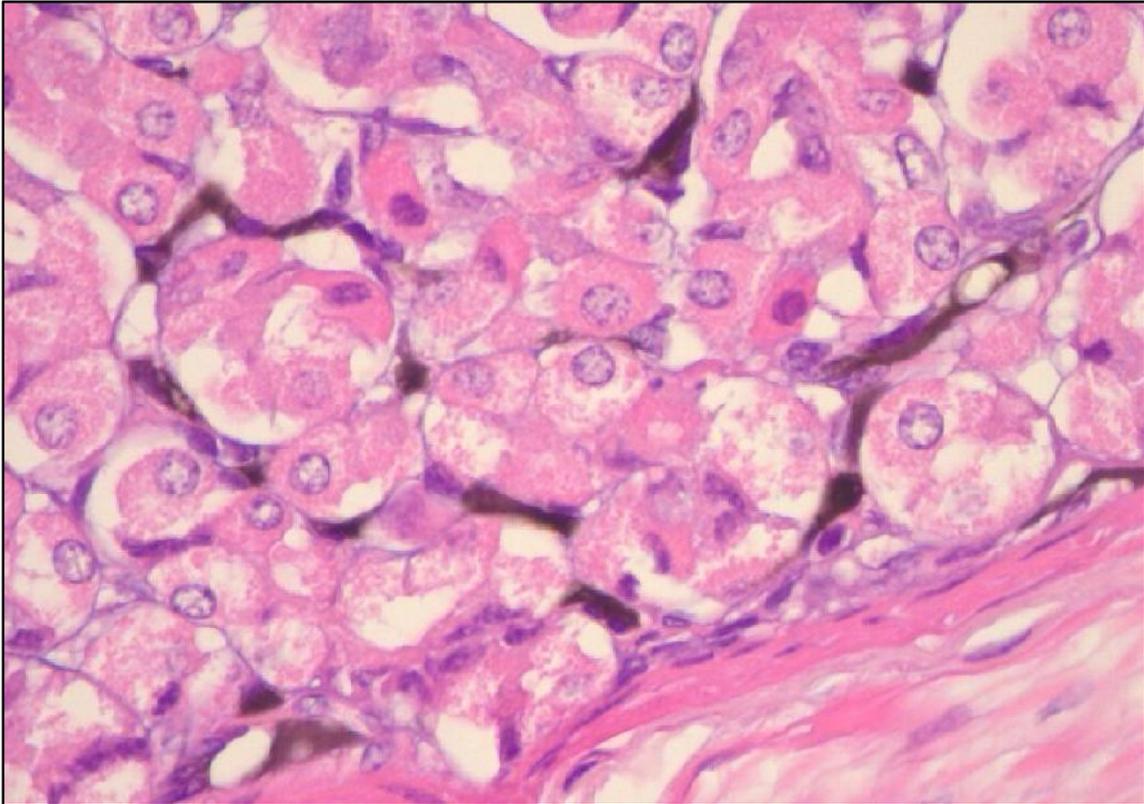


Figura 41 – Grande curvatura, *muscularis mucosae* e glândulas, (HE, 400x)

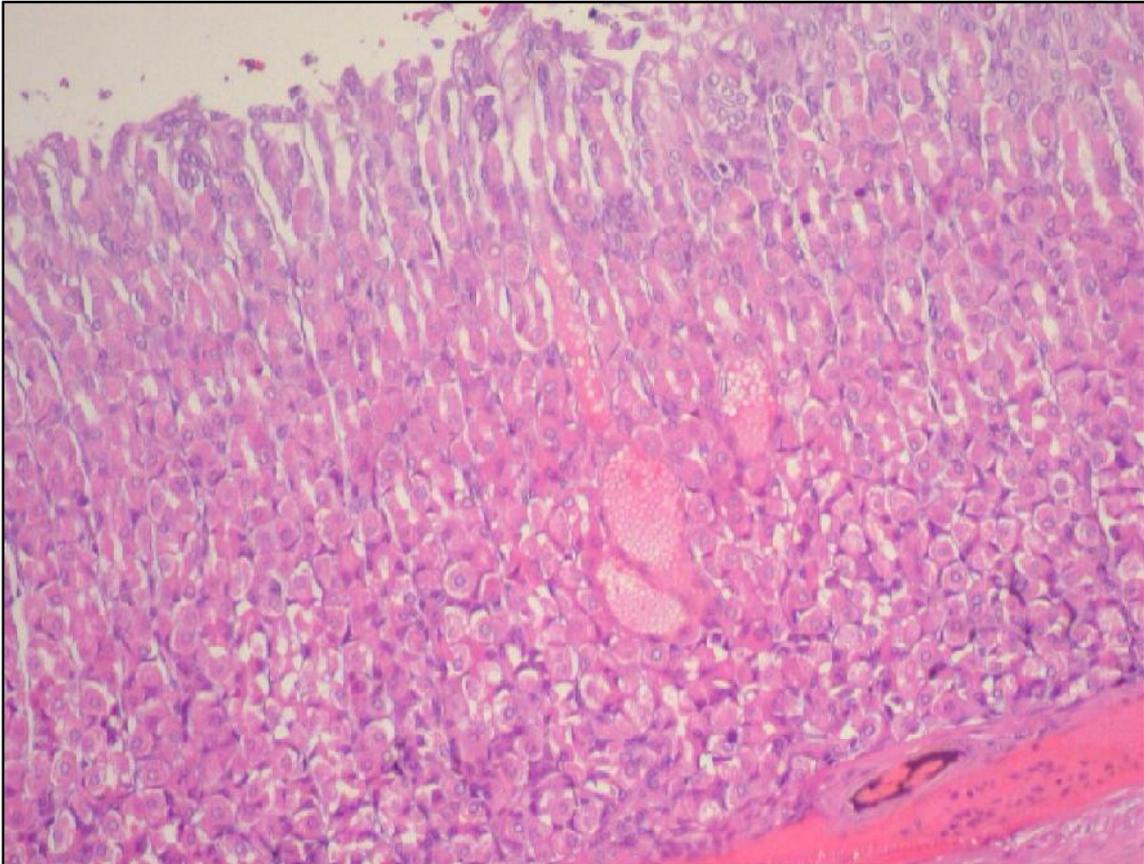


Figura 42 – Corpo, região glandular e vascularização, (HE, 100x)

vénula. A menor espessura da parede venular está relacionada com a sua menor pressão (Figura 43).

No antro a mucosa é diferente. As glândulas de tipo antral produzem muco, apresentando-se constituídas por dois terços de cripta e um terço de glândula, (Figura 44). A justificação para a produção do muco reside na necessidade de neutralização do pH, que é muito baixo, para proteção do duodeno que não tolera a acidez excessiva. No duodeno do ser humano, as glândulas de Brunner têm a mesma função. Existem zonas de transição com o corpo, com presença de células eosinófilas.

No piloro a região glandular é semelhante à do antro, dois terços de criptas e um terço de glândulas (Figura 45). Na transição piloroduodenal, começam a surgir as glândulas de Brunner (Figura 46). Ocasionalmente, já se observam glândulas de Brunner no estômago (Figura 47).

O duodeno, é diferente. Existem glândulas de Brunner na submucosa (Figura 48), sendo dos poucos sítios em que existem glândulas nesta localização; observam-se, ainda, células caliciformes características do intestino delgado (Figura 49).

Submucosa

No fundo gástrico, a submucosa é, basicamente constituída por tecido conjuntivo e vasos, não sendo muito espessa. Existem vasos em qualquer zona da mesma. Observa-se um grande vaso na submucosa neste setor (Figura 51).

Na junção esofagogástrica, a submucosa é muito espessa, à semelhança da submucosa da parede do esófago, que é mais grossa, comparativamente, à do ser humano, o que deve estar relacionado com a deglutição alimentar. Os vasos da submucosa podem, também, ser identificados por imunohistoquímica que, marcando as células endoteliais, torna o contorno vascular visível.

Na região dos vasos curtos gástricos, quase não existe submucosa; no entanto, observa-se um grande vaso submucoso na (Figura 52). Na submucosa da grande curvatura, observam-se vasos corados com tinta-da-china. No antro, quase não existe submucosa (Figura 53).

Muscular propria

Na junção esofagogástrica, observa-se zona de transição entre o músculo estriado do esófago e o músculo liso do estômago (Figura 54). Interpreto que, na cobaia, a presença de músculo estriado esofágico até ao cárdia garante que os movimentos peristálticos chegam ao setor distal. Esta constituição representa uma grande diferença histológica relativamente ao ser humano no qual, o músculo estriado se confina ao terço superior do esófago. A *muscular propria* gástrica é formada por fibras longitudinais e por fibras transversais.

Na região dos vasos curtos gástricos, as duas camadas da *muscular propria* interna, longitudinal e externa, transversal, são bem visíveis (Figura 55).

Na pequena curvatura, existe espessamento da camada *muscular propria*. Entre as duas camadas, observa-se o plexo mioentérico de Auerbach. Existe uma zona de alteração da espessura da *muscular propria*. No piloro a espessura da camada muscular é muito maior (Figura 56).

Resumo

1. Presença de músculo esquelético esofágico até à junção esofagogástrica.
2. Epitélio de superfície queratinizado. Inexistente no ser humano.
3. Submucosa da parede do esófago, proporcionalmente, mais espessa, comparando com o ser humano.
4. Região dos vasos curtos menos espessa e com submucosa muito ténue.
5. Pequena curvatura com *muscular propria* espessada.
6. Toda a mucosa gástrica é glandular, não tendo sido identificados setores aglandulares. Se houvesse epitélio aglandular teria que ser estratificado (tipo esofágico) e tal não existe. Tal constância glandular está em harmonia com o aspeto uniforme da microvascularização da mucosa gástrica da cobaia presente em todas as regiões do estômago e, está em desacerto com a referência à existência de dois tipos de mucosa (glandular e não glandular) no estômago da cobaia, frequentemente, expressa em alguma literatura.²³⁸
7. Maior parte da mucosa gástrica está ocupada por invaginações das células mucosas na *lamina propria*, que formam as criptas.
8. As glândulas gástricas têm forma tubular, sendo constituídas por epitélio secretor e pelo ducto; é o canal excretor que drena para a cripta.
9. As vénulas têm parede pouco espessa, porque a sua pressão é baixa.
10. A zona secretora do corpo é mais alta do que no antro.
11. A mucosa do antro possui glândulas de tipo antral, produtoras de muco.
12. Piloro semelhante ao antro: 2/3 de criptas e 1/3 de glândulas. A espessura da camada muscular é maior.
13. No duodeno existem glândulas de Brunner na submucosa. Mucosa com presença de células caliciformes.

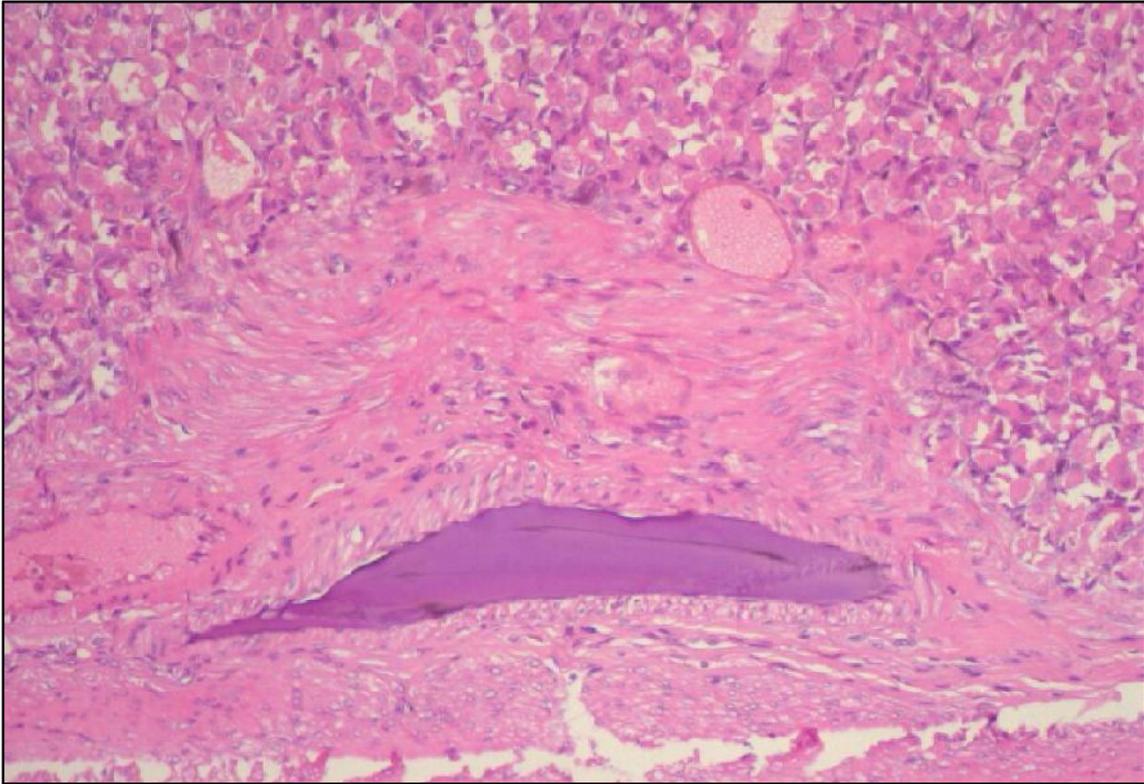


Figura 43 – Corpo, zona com *muscularis mucosae* com arteríola e vénula. A vénula tem parede pouco espessa porque a pressão é baixa, (HE, 100x)

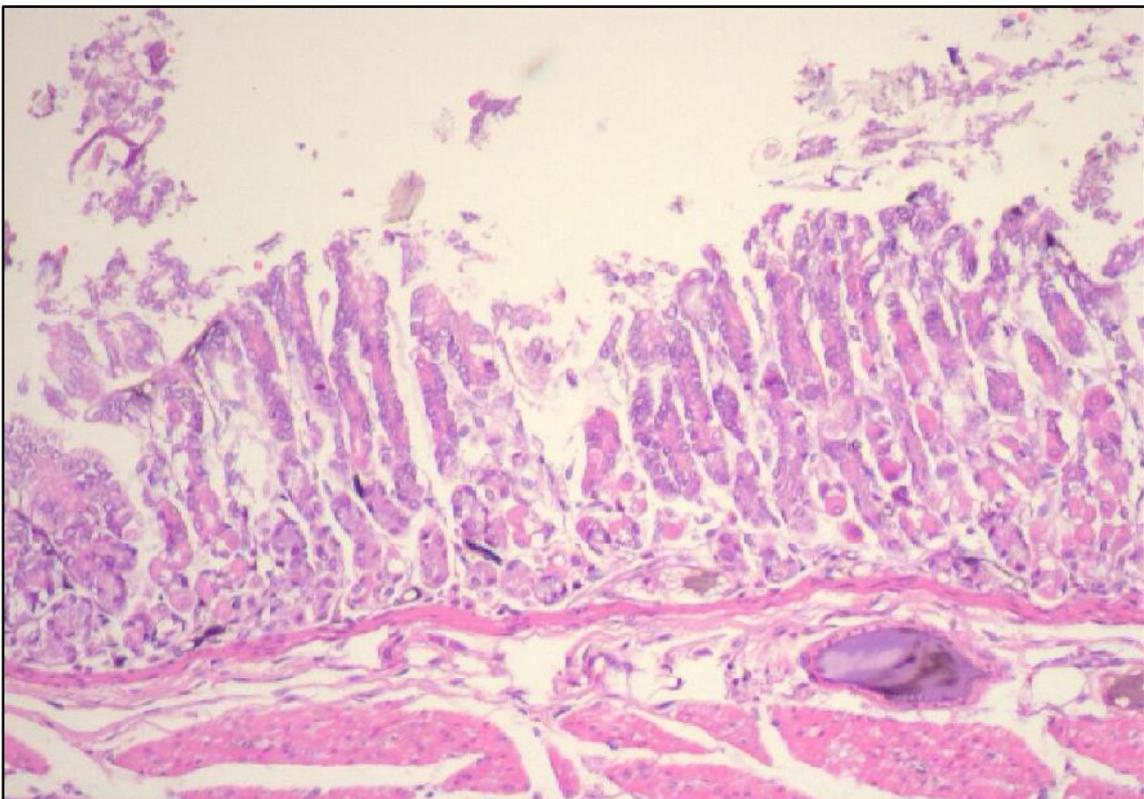


Figura 44 – Antro, zona de transição muito equivalente ao corpo, o aspeto das glândulas é semelhante. A mucosa do antro é menos espessa. Ainda se veem células eosinófilas, típicas do corpo. Começam a aparecer as glândulas mucosas, (HE, 100x)

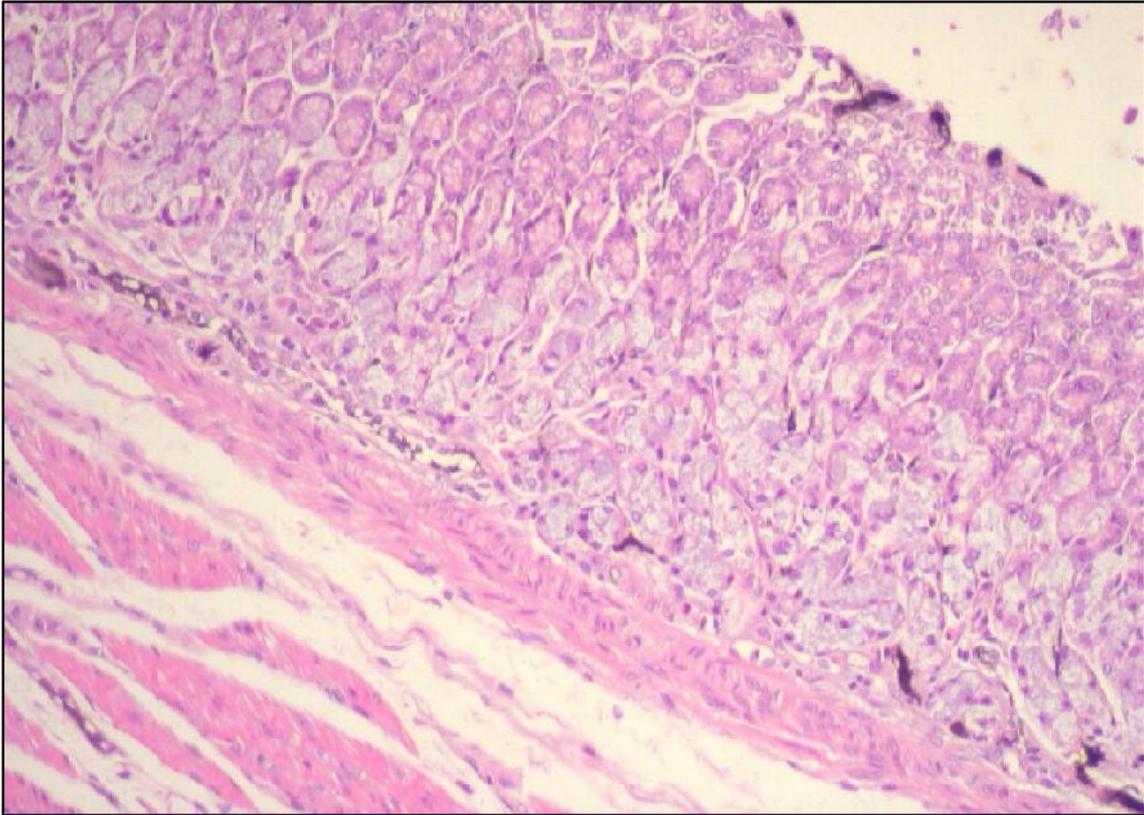


Figura 45 – Píloro, região glandular, (HE, 100x)

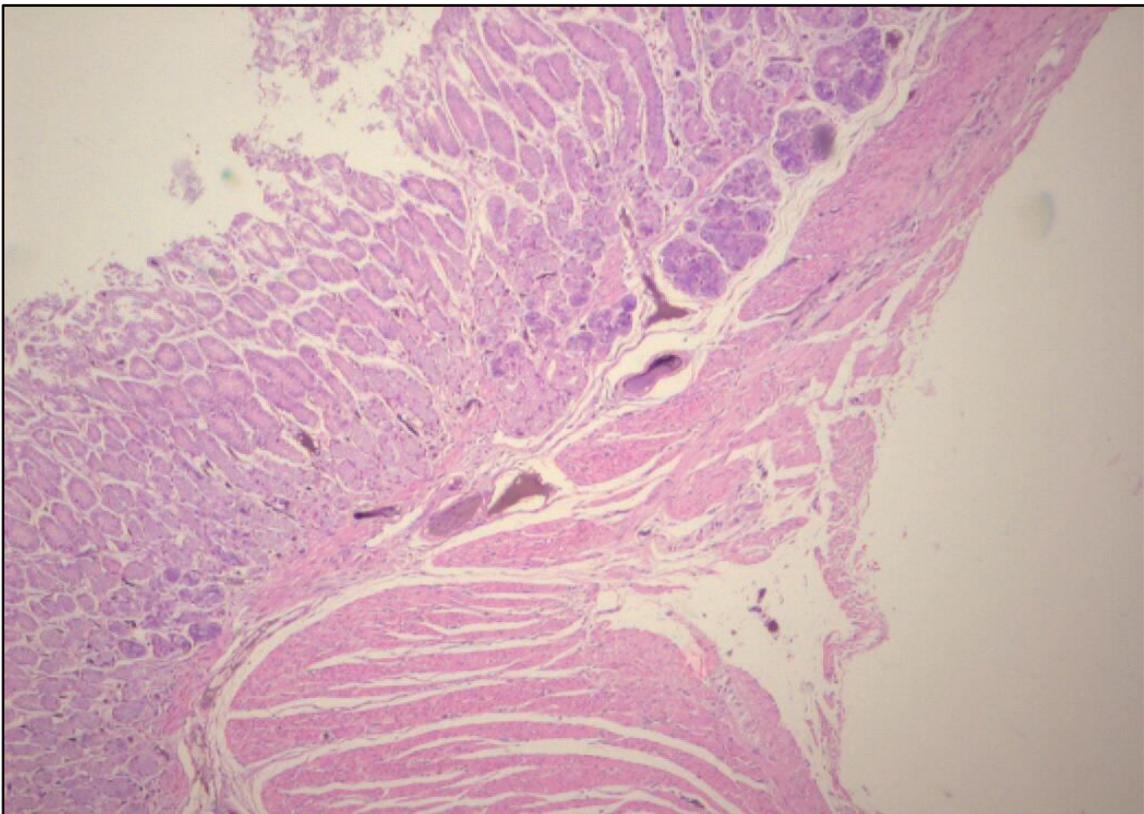


Figura 46 – Transição gastroduodenal, zona onde começam a aparecer as glândulas de Brunner, (HE, 100x)

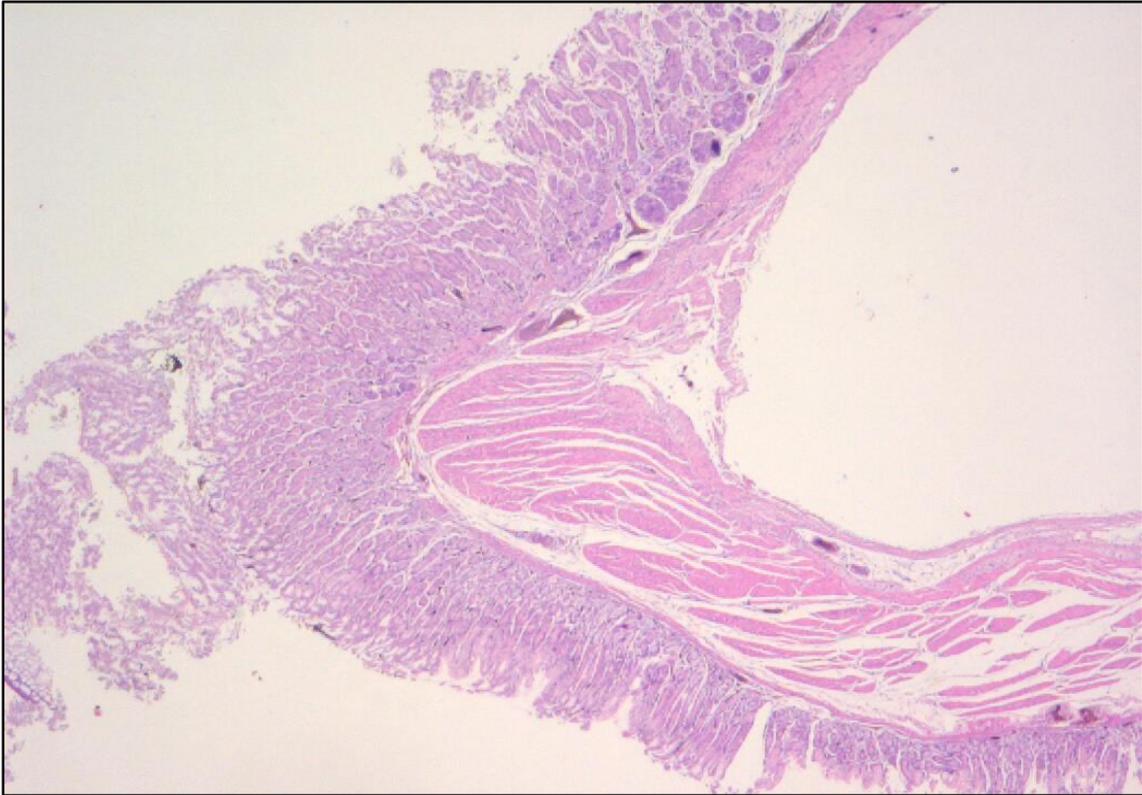


Figura 47 – Píloro, glândulas de Brunner, (HE, 40x)



Figura 48 – Duodeno, glândulas de Brunner na submucosa; é dos poucos sítios em que há glândulas na submucosa, (HE, 100x)

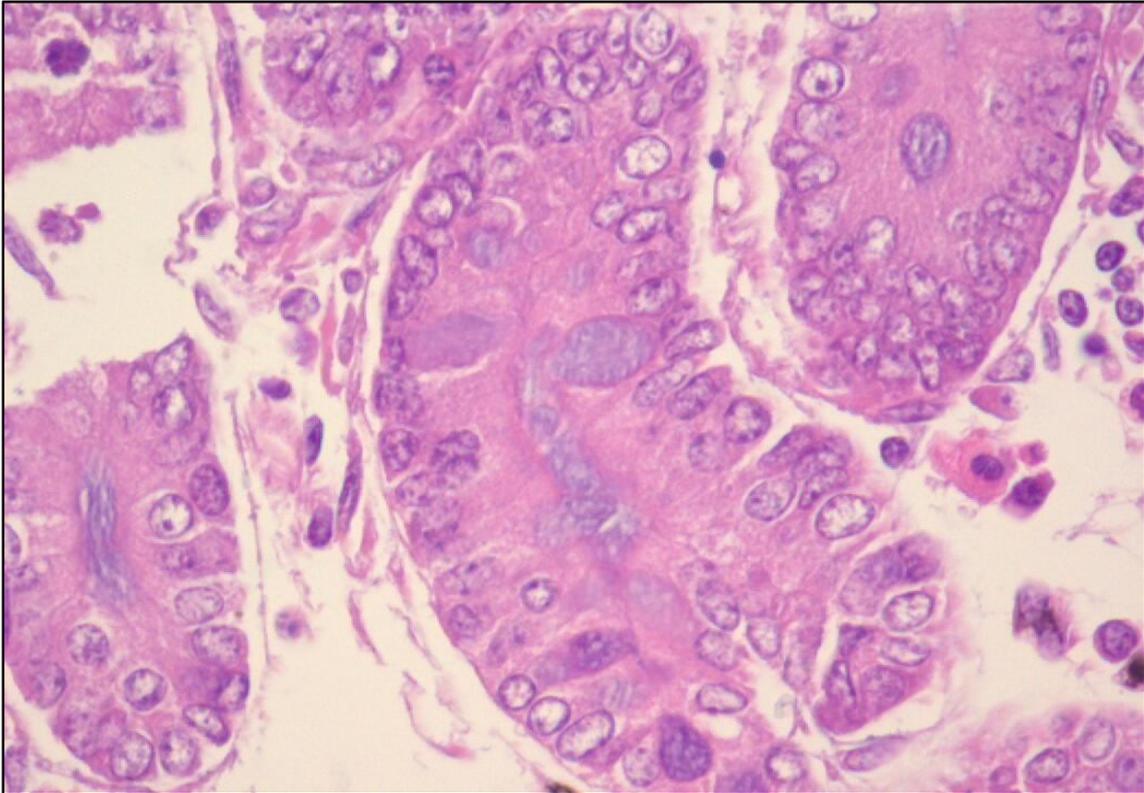


Figura 49 – Glândula duodenal, o epitélio é diferente porque já se veem células caliciformes, (HE, 400x)

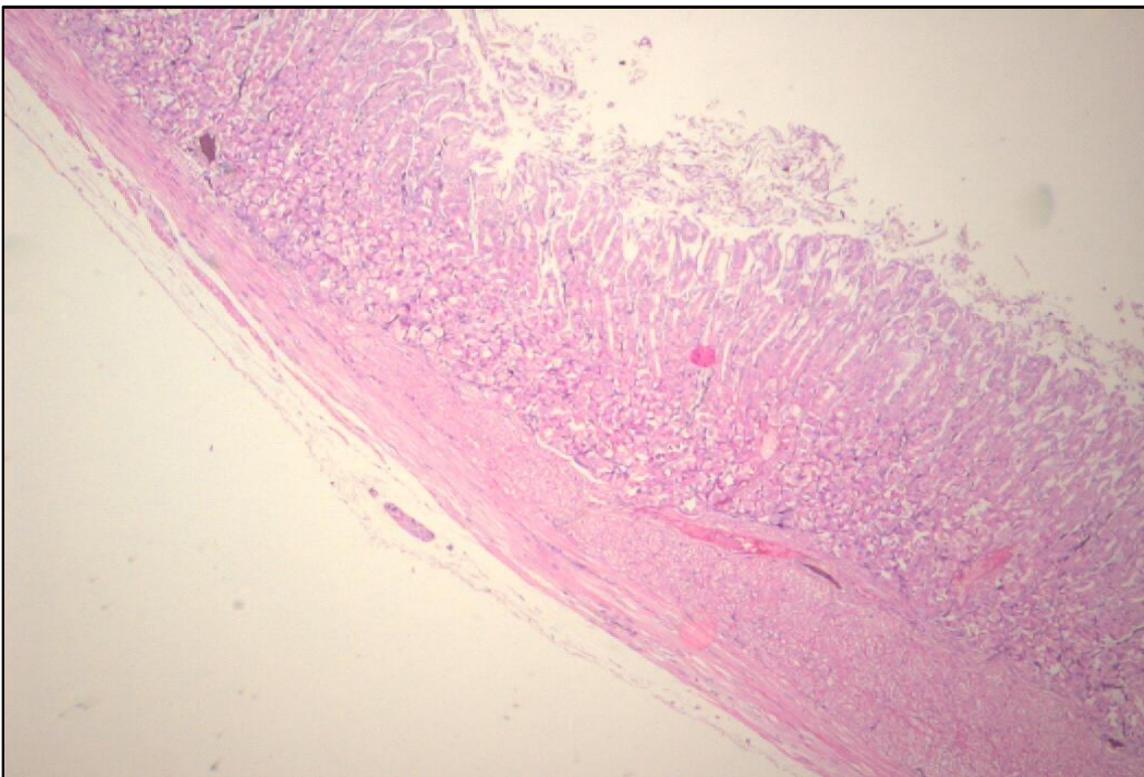


Figura 50 – Corte que confirma que há sempre glândulas em toda a mucosa. Zona de transição de espessura da muscular *propria*, (HE, 40x)

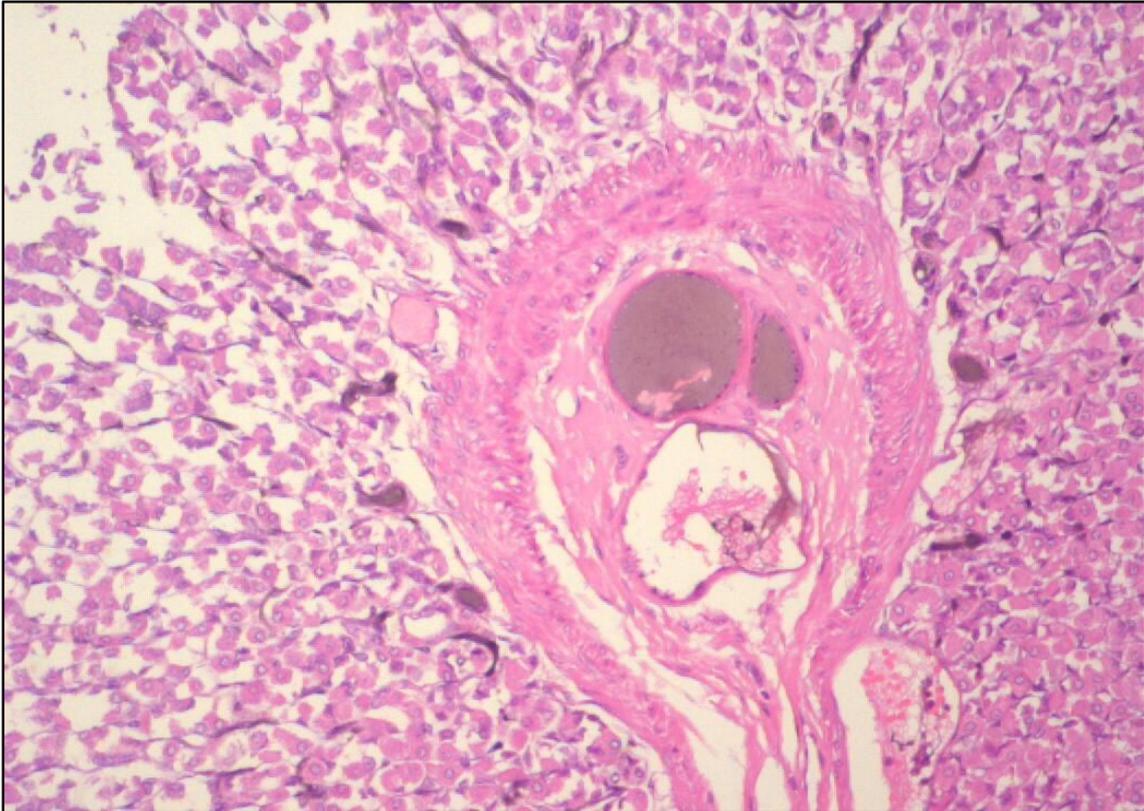


Figura 51 – Fundo, vasos de grande calibre na submucosa, (HE, 100x)

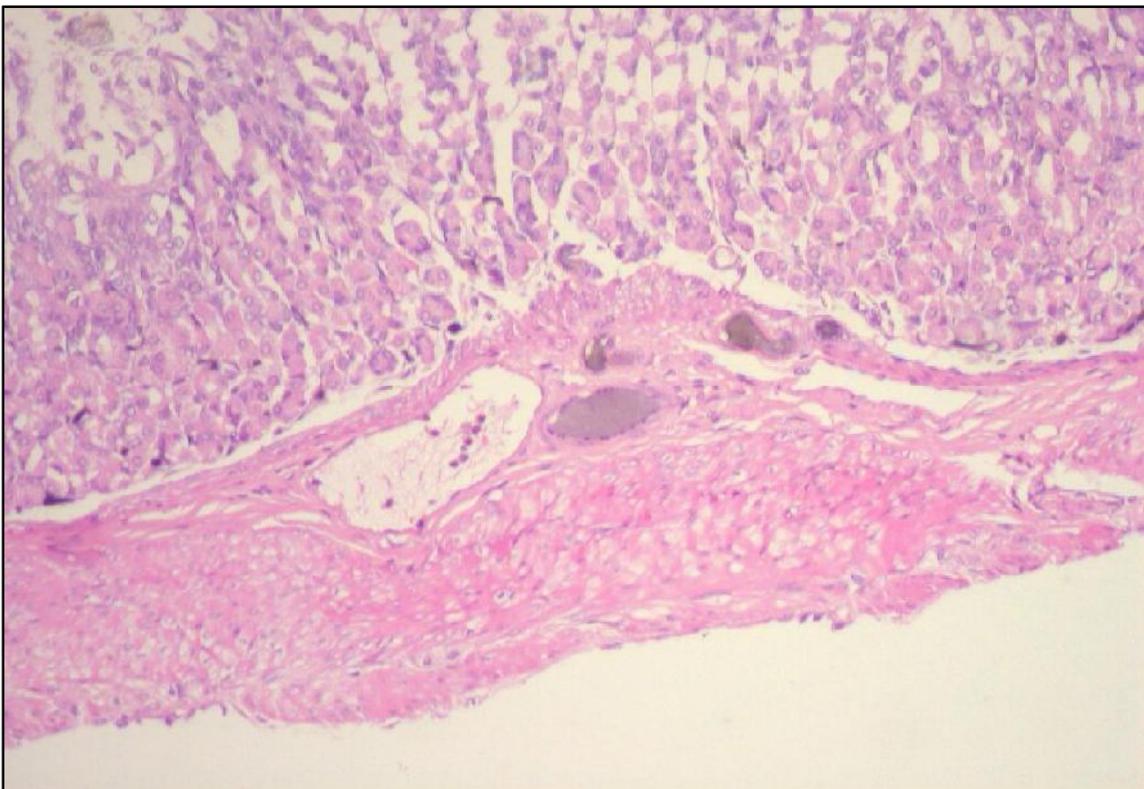


Figura 52 – Grande curvatura, quase não existe submucosa; vê-se muito bem a *muscularis mucosae*, (HE, 100x)

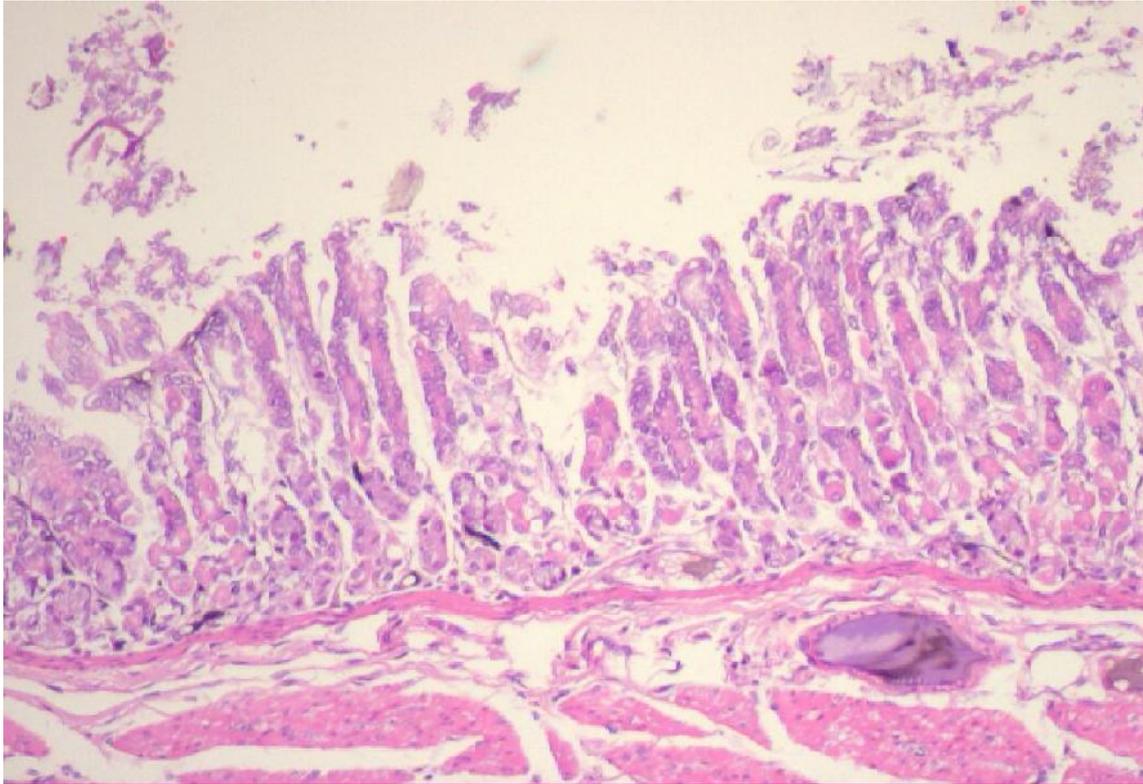


Figura 53 – Antro transição, o aspeto das glândulas é semelhante. A mucosa do antro é menos espessa. Ainda se veem células eosinófilas, típicas do corpo. Começam a aparecer as glândulas mucosas, (HE, 100x)

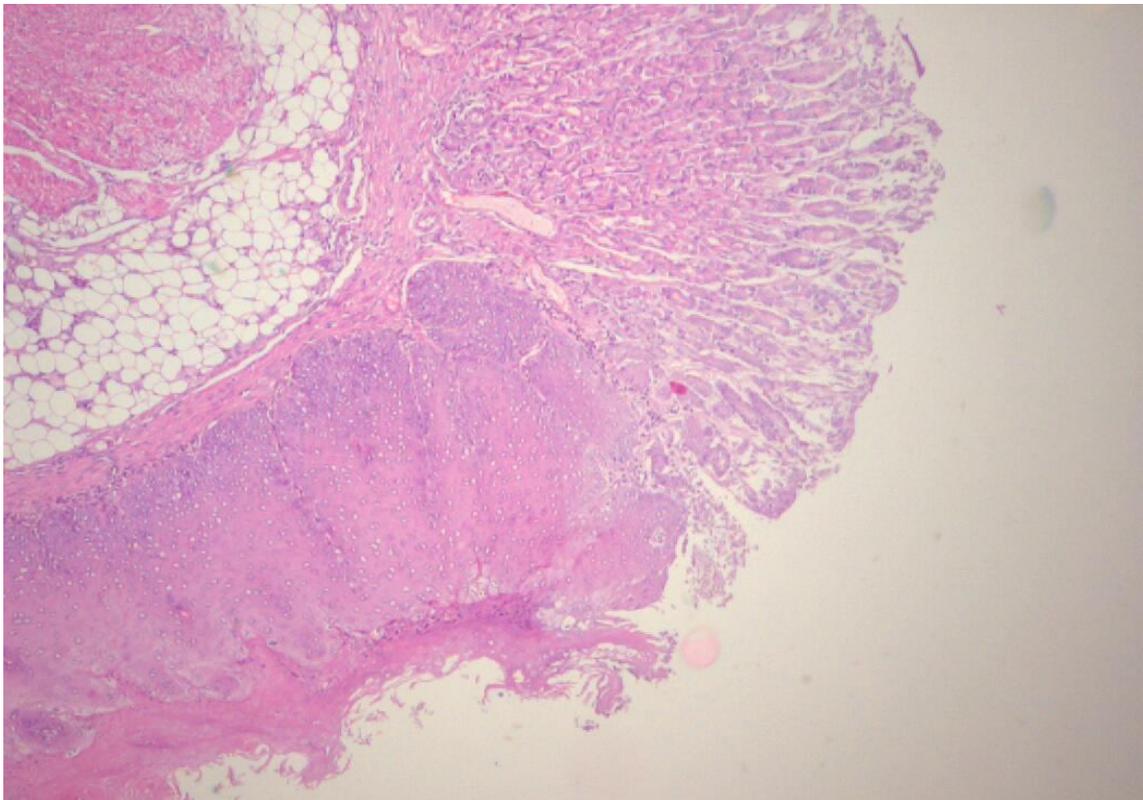


Figura 54 – Transição esofagogástrica, (HE, 100x)

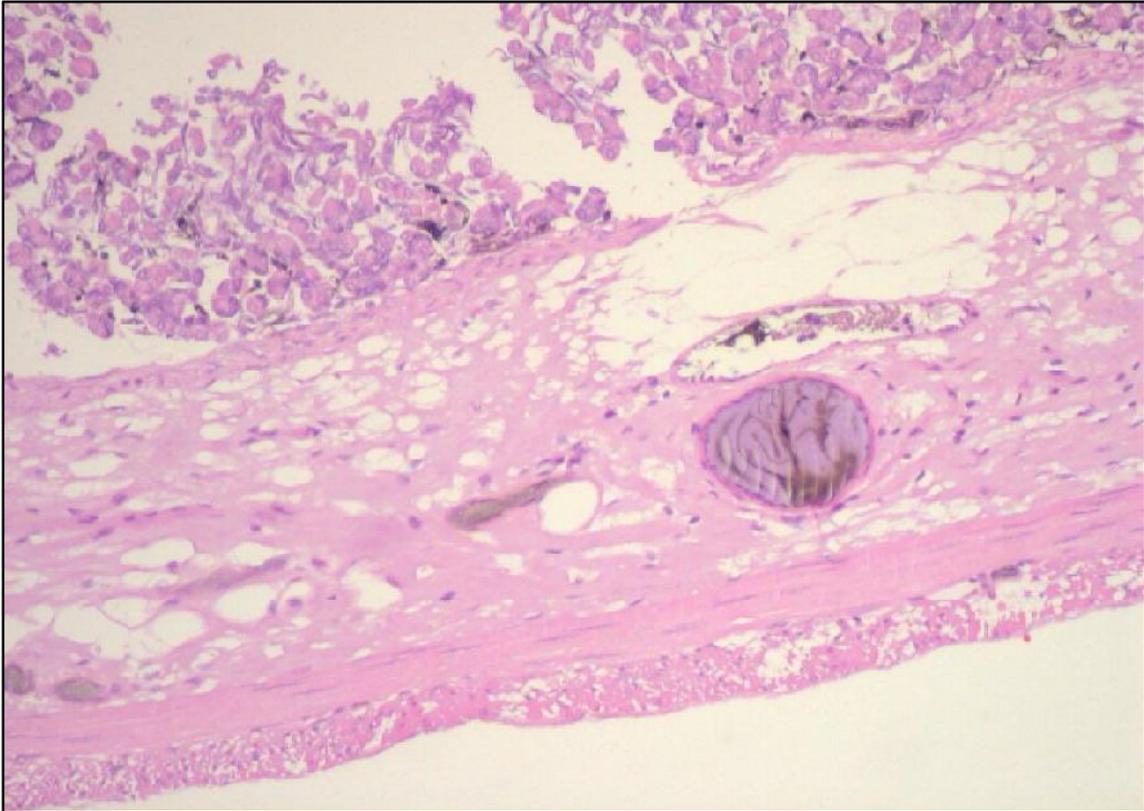


Figura 55 – Grande curvatura, as duas camadas da muscular própria: a interna, em corte longitudinal e a externa, em corte transversal. Nesta zona, a submucosa é muito maior, (HE, 100x)

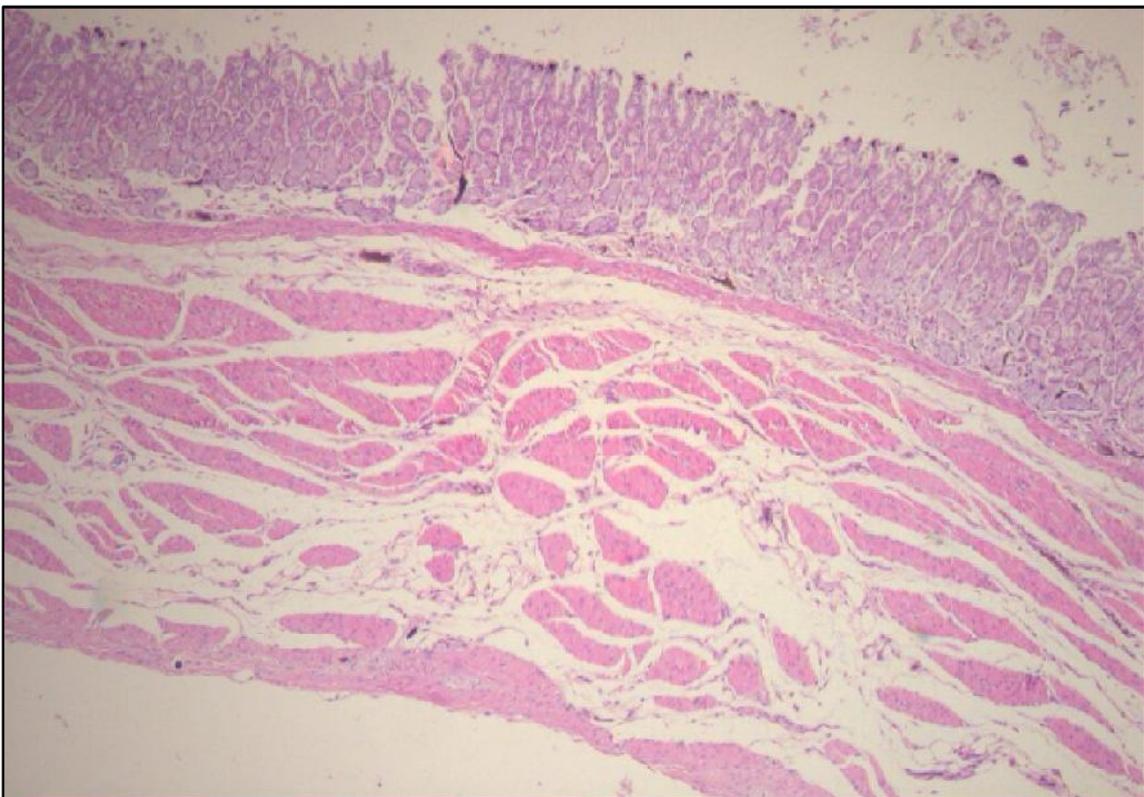


Figura 56 – Píloro, espessamento da camada muscular, (HE, 40x)

Capítulo 12 – Semelhanças Morfológicas Entre o Modelo Animal e o Homem

Na ausência de modelos animais validados para o estudo de procedimentos terapêuticos de situações patológicas de refluxo gastresofágico, procurei desenvolver um modelo animal alternativo ao humano para refinar a técnica cirúrgica que emprego, regularmente.

Tendo procedido à análise e descrição das estruturas da parede gástrica da cobaia e, procurando analogias morfológicas, macro e microscópicas, com o estômago humano, selecionei as evidências subseqüentes, suscetíveis de facultar comparações e de apoiar a validação como modelo de experimentação animal.

Anatomia vascular do estômago da cobaia

Na cobaia, a vascularização arterial do estômago é assegurada por um único vaso, o tronco celíaco-mesentérico, através dos seus ramos tributários: a artéria gástrica esquerda, a artéria gastro-omental esquerda e os vasos curtos gástricos.

Destes três afluentes, a artéria gástrica esquerda é a que veicula maior porção de sangue ao estômago. Os seus dois ramos terminais contribuem para a irrigação do fundo, do corpo e do antro gástrico através de uma rica rede vascular, estruturada para fornecer a zona glandular do órgão.

Anatomia vascular do estômago do ser humano (breve revisão)

As artérias do estômago provêm de três ramos do tronco celíaco: a gástrica esquerda (referida, classicamente, como coronária estomáquica) que se divide em dois ramos terminais que descem ao longo da pequena curvatura e se anastomosam com os ramos da artéria pilórica, ramo da artéria hepática; a artéria hepática, que por intermédio da artéria gastroduodenal, fornece ao estômago a artéria gastro-omental direita que, por sua vez, se anastomosa ao longo da grande curvatura com a artéria gastro-omental esquerda ramo da artéria esplénica; a artéria esplénica que fornece ao estômago as artérias curtas, em número variável (duas a dez). Todas as artérias se anastomosam entre si, formando duas arcadas que se localizam: uma, na pequena curvatura e a outra, na grande curvatura. Destas arcadas nascem numerosos ramos, em ângulo reto, que se dirigem às duas faces do órgão. A parte superior do corpo do estômago e a grande tuberosidade são irrigadas pelas artérias curtas da artéria esplénica e pelas artérias cardioesofágicas e tuberositárias, ramos da gástrica esquerda e da artéria esplénica.

Michels (1955)²³⁹ estudando, exaustivamente, a anatomia da circulação gástrica, em duzentos cadáveres humanos, mostrou que existem pelo menos seis artérias principais que nutrem o estômago. Em adição às cinco artérias – gástrica direita, gástrica esquerda, gastro-omental esquerda, gastro-omental direita e esplénica – o estômago recebe sangue diretamente da artéria gastroduodenal, através de um a três pequenos ramos diretos e, frequentemente, de um grande ramo pilórico. Além destes seis vasos, existem, com

frequência, outras seis artérias secundárias – pancreaticoduodenal superior, supraduodenal, retroduodenal, pancreática transversal, pancreática dorsal e frénica esquerda inferior – que fornecem sangue para o estômago, sendo frequente um grande número de variantes nesta circulação. Finalmente, o grau de anastomose entre estes doze vasos e outros é tão extenso que Michels delineou oito vias arteriais colaterais diferentes (*arci et circuli*) que, regularmente, enredam o estômago e o conectam às maiores vias arteriais esplâncnicas. O grande número de ramificações nesta grande região vascular levou Barlow (1951)²⁴⁰ a concluir que “fica a impressão de que, apesar de no abdómen as artérias mencionadas irrigarem os seus destinos formais tradicionais, toda a perfusão do estômago e do intestino deve ser olhada como uma treliça vascular nutrida em pontos estratégicos constantes pelas artérias referidas, as quais permitem que o fluxo de sangue flua, diretamente, em qualquer sentido, a partir de qualquer área, consoante as circunstâncias do controlo vascular”.

A natureza anastomótica da circulação gástrica explica em grande parte a falência de algumas tentativas prévias de alterar, de forma permanente, a estrutura ou função da mucosa gástrica mediante desvascularização do estômago. Existe uma situação de “tudo-ou-nada”: por um lado, a laqueação total de todas as artérias para o estômago resulta em necrose e rutura do órgão. Por outro, a laqueação vascular não total pode ter pouca repercussão sobre a estrutura e a função secretora do estômago. As veias do estômago são satélites das artérias e dirigem-se à veia porta.

Artéria esplénica

A artéria esplénica é o mais constante dos ramos do tronco celíaco. No estudo de Esperança Pina (1979)²⁴¹, que analisou seis casuísticas num total de 357 baços humanos, tal origem foi observada em 97,19% dos casos, envolvendo as seguintes modalidades:

- Os ramos terminais do tronco celíaco eram a artéria esplénica e a hepática, sendo a artéria gástrica esquerda ramo colateral em 227 casos (63,58%).
- A artéria esplénica, a hepática e a gástrica esquerda constituíam o clássico tripé celíaco em 88 casos (24,64%).
- A artéria esplénica constituía o ramo terminal do tronco celíaco, sendo as artérias hepática e gástrica esquerda os seus ramos colaterais num caso (0,28%).
- A artéria hepática e a esplénica constituíam o tronco hepato-esplénico, nascendo a artéria gástrica esquerda isoladamente da aorta abdominal em 15 casos (4,20%).
- A artéria esplénica e a gástrica esquerda constituíam o tronco espleno-gástrico, nascendo a artéria hepática de um tronco comum com a artéria mesentérica superior, ou mais raramente, isoladamente da aorta abdominal, em 12 casos (3,36%).
- A artéria hepática, a esplénica, a gástrica esquerda e a pancreática dorsal foram observadas, por Michels, a constituir um tronco espleno-gastro-pancreático-hepático em 4 casos (1,12%).
- O tronco celíaco e a artéria mesentérica superior constituíam o tronco celíaco-mesentérico em 5 casos (1,4%).
- A artéria esplénica nascia diretamente da aorta abdominal, originando-se os outros dois ramos habituais do tronco celíaco também, individualmente, da aorta em 2 casos (0,56%).

- A artéria esplênica e a mesentérica superior constituíam o tronco espleno-mesentérico, encontrando-se o tronco celíaco reduzido às artérias hepática e gástrica esquerda em 3 casos (0,84%).
- A artéria esplênica é predominantemente ramo do tronco celíaco;^{242,243} no entanto, foram referidas outras origens, mais raras: ramo independente da aorta,^{244,245,246,247} ramo da artéria mesentérica superior,²⁴⁸ ramo da artéria gástrica esquerda, ramo das artérias hepática ou mesentérica superior.²⁴⁹ Em 156 cadáveres humanos, estudados por disseção, corrosão e angiografia, a presença dos três ramos do tronco celíaco foi constatada em 86% dos casos,²⁵⁰ tendo, por vezes, sido encontrado um tronco hepato-esplênico, com origem secundária da artéria gástrica esquerda (nascida, em geral, do ângulo entre as artérias hepática e esplênica). Como principais variações ao arranjo clássico, foi observado:
 - Um tronco gastro-esplênico, verificando-se a origem da artéria hepática do tronco mesentérico superior, ou diretamente da aorta, em 76% dos casos.
 - Um tronco hepato-esplênico, com origem independente da gástrica esquerda, diretamente da aorta, em 6% dos casos.
 - Ausência de tronco celíaco, sendo a origem de cada um dos ramos independente, em dois casos; diretamente da aorta num dos casos e da hepática, ao nível do tronco mesentérico superior, no outro caso.²⁵¹

Refiro, ainda, os estudos de Tandler, sobre a artéria onfalomesentérica fetal, que justificam o aparecimento das principais variações do tronco celíaco, que transcrevo do trabalho de Pires MAB (2010)²⁵² sobre variações do tronco celíaco. Segundo J.Tandler (1904),²⁵³ as principais variações do tronco celíaco encontram explicação com base embriológica. A artéria hepática e a esplênica tomam origem numa anastomose longitudinal (*längsanastomose*) entre os quatro ramos da artéria onfalomesentérica, com desaparecimento por fusão dos dois ramos centrais. Subsequentemente, à origem das artérias hepática e coronária estomáquica, o quarto ramo torna-se independente, para dar origem à artéria mesentérica superior. No caso de a separação entre os ramos da artéria onfalomesentérica ocorrer a um nível mais elevado, um dos ramos do tronco celíaco poderá ter origem na artéria mesentérica superior. Por desaparecimento do primeiro ou do quarto ramo, pode ter origem um tronco celíaco-mesentérico.

Artéria gastro-omental esquerda

A artéria gastro-omental esquerda (conhecida, classicamente, como gastrepiplóica) é constante, tendo sido identificada em 100% dos casos estudados.²⁵⁴ Dirigindo-se ao longo do omento gastro-esplênico, termina no estômago.

A sua emergência foi observada como ramo colateral direto do tronco esplênico em 10%, 65%, e 72% dos casos e como colateral do ramo esplênico inferior em 15%, 17,5%, 85% e 90% dos casos.^{255, 256}

Numa casuística de 156 casos originava-se no tronco esplênico, antes da ramificação terminal em 26%; e no ângulo de divisão arterial, condicionando trifurcação, em 8%. Porém, em 66% dos casos houve dificuldade em determinar a sua origem dada a semelhança do calibre dos vasos; se no ramo de divisão inferior da artéria esplênica, ou se, pelo contrário, era o ramo esplênico inferior que se originava da artéria gastro-

omental esquerda. Por esse motivo, foi sugerida a designação de tronco “lieno-gastro-omental” em vez de tronco esplênico principal.

No que se refere à importância cirúrgica, esta artéria fornece um significativo contributo para a irrigação do baço devendo a sua laqueação integrar a estratégia de desconexão azigoportal na hipertensão portal.²⁵⁷

Artérias curtas gástricas

São ramos finos mas, nem sempre curtos. São muito variáveis em número, desde dois a dez, podendo ser classificados em três grupos: superior, médio e inferior. Com origem muito variável (artéria esplênica ou dos seus ramos terminais, artéria polar superior, artéria polar inferior, artéria gastro-omental esquerda) caminham no omento gastro-esplênico e alcançam a face posterior da grande tuberosidade do estômago. Alguns vascularizam a face anterior depois de contornarem a grande curvatura.

O vaso curto mais superior é a artéria da doma tuberositária e o mais inferior destaca-se da artéria gastro-omental esquerda.

As artérias gástricas curtas (*arteriae gastricae breves*) foram identificadas em 100% dos 156 casos estudados por Vandamme e Bonte (1986) que, referiram que apenas, raramente, não são observados, como nos três casos de 55 descritos por Leriche e Villemin (1907). Revendo a literatura, a este propósito, concluíram que o número destes vasos pode variar entre um (Leriche e Villemin, 1907) e dez (Michels, 1955) e que as artérias curtas para o estômago podem ter origem em qualquer dos ramos arteriais da proximidade do hilo esplênico como: no tronco esplênico principal, em qualquer dos ramos de divisão da artéria esplênica ou mesmo uma origem intraparenquimatosa esplênica (Kosinski, 1928).²⁵⁸ Michels (1955), verificou 25 origens possíveis e distinguiu três grupos principais: superior, médio e inferior. Ignjatovic e cols., 1998,²⁵⁹ por métodos de injeção-corrosão e disseção de peças anatómicas, e por angiografias *post-mortem*, observaram a constância das artérias curtas para o estômago, em número de 1 a 5 e a sua origem variável: do tronco da artéria esplênica (o mais frequente), da artéria gastro-omental esquerda, da artéria polar superior e do ramo lobar superior.

Bergman e cols., (1999)²⁶⁰ consideraram que a artéria esplênica fornece, em média, 4 a 6 artérias curtas para o estômago, as quais constituem circulação terminal, a nível da grande curvatura gástrica. Jauregui (1999) observou vasos curtos para o estômago em 100% dos casos como ramos colaterais da artéria esplênica, sendo vasos curtos superiores em 73%, e vasos curtos inferiores em 27%. Archie (1992)²⁶¹ estabeleceu os valores médios da pressão arterial colateral da artéria esplênica, nomeadamente das artérias curtas para o estômago ($34,3 \pm 9,4$ mmHg), sublinhando a importância desta circulação colateral nos casos de doença oclusiva da artéria celíaca ou da artéria esplênica.

Histologia do estômago da cobaia

A mucosa do fundo gástrico da cobaia é constituída por epitélio cilíndrico, *lamina propria* e *muscularis mucosae*. Dois terços da *lamina propria* são glandulares e um terço é epitélio mucoso. A *lamina propria*, ou córion, é tecido conjuntivo laxo e apenas existe na mucosa. A mucosa é muito espessa e glandular. A *muscularis propria* é mais espessa na região dos vasos curtos gástricos e da pequena curvatura.

A mucosa gástrica da cobaia é sempre glandular, estando a sua maior parte ocupada por invaginações das células mucosas na *lamina propria*. Essas invaginações formam cavidades, as criptas. As glândulas são constituídas pelo epitélio secretor e pelo ducto, o canal excretor que abre na cripta. As criptas podem receber um ou mais ductos glandulares.

As glândulas gástricas são formadas pelas células principais que segregam pepsinogénio e por células parietais que segregam HCL. Existem variações das glândulas. Por exemplo, no antro as glândulas (tipo antral) são produtoras de muco. A justificação para a produção do muco reside na necessidade de neutralização do pH gástrico, que é muito baixo, para proteção do duodeno que não tolera acidez excessiva. No duodeno do ser humano, as glândulas de Brunner têm a mesma função.

A submucosa apresenta variantes. Na junção esofagogástrica é muito espessa, à semelhança da submucosa da parede do esófago que, é mais densa, comparativamente, à do ser humano. No fundo gástrico, a submucosa não sendo muito espessa é, maioritariamente, constituída por tecido conjuntivo e vasos. Na região dos vasos curtos gástricos e no antro a submucosa é muito delgada.

A *muscularis propria* do estômago é mais espessa na região pilórica.

Histologia do estômago no ser humano (breve revisão)

No ser humano, as camadas da parede gástrica correspondem à estrutura fundamental de todo o trato gastrointestinal: mucosa (com delineação basal pela *muscularis mucosae*), submucosa, *muscularis propria* e serosa.²⁶²

A mucosa do fundo do estômago tem as criptas mais curtas, ocupando apenas um quarto da espessura da mucosa. As glândulas têm formato retilíneo e, descritivamente, podem dividir-se em três porções – base, colo e istmo – A base das glândulas é formada, principalmente, por células principais, secretoras de pepsina. A porção ístmica contém, predominantemente, células parietais, secretoras de ácido. O colo contém uma mistura de células parietais, células principais e células secretoras de muco. Existem células mucosas indiferenciadas no colo e no istmo que atuam como células estaminais, podendo migrar ora para a superfície, para renovarem o epitélio superficial muco secretor, ora para a profundidade para se transformarem em células principais, parietais e neuroendócrinas. Nos seres humanos o epitélio gástrico superficial renova-se cada quatro a oito dias. As células parietais e principais renovam-se muito mais lentamente, entre um a três anos. As células argentafins, outro elemento celular das glândulas fúndicas, têm funções endócrinas. A estrutura superficial da mucosa antral difere da do fundo por possuir criptas mais compridas e, por correspondência, pregas mais elevadas

resultando assim numa estrutura, parcialmente, vilosa. A *lamina propria* tem uma elevada densidade de tecido adiposo. Na região do cárdia e na do antro as criptas ocupam metade da espessura da mucosa. As glândulas são espiraladas e por vezes ramificadas. As células antrais são de dois tipos: células mucoides, com secreção mucosa e células G, produtoras de gastrina e de outras hormonas. No antro, 50% de toda a população celular endócrina são células G – produtoras de gastrina, 30% são células EC – enterocromafins, produtoras de serotonina – e 15% são células D – que produzem somatostatina. No fundo, a maior porção de células endócrinas é *enterocromaffin-like*, havendo também células EC e células X (secreção desconhecida). As células secretoras de hormonas localizam-se, principalmente, na base das glândulas gástricas.²⁶³

A *lamina propria* do estômago é, relativamente, escassa e restrita aos espaços que circundam as criptas e as glândulas gástricas. O estroma é composto pela associação de fibras reticulares com fibroblastos e células musculares lisas. Outros componentes incluem células do sistema imunológico, principalmente, linfócitos, plasmócitos, macrófagos e eosinófilos. Nódulos linfáticos ocasionais estão, igualmente, presentes. A muscular da mucosa (*muscularis mucosae*) é constituída por duas camadas finas, geralmente, dispostas numa camada circular interna e numa camada longitudinal externa. Nalgumas regiões, pode existir uma terceira camada cuja orientação tende a seguir um padrão circular.

A submucosa é composta por tecido conjuntivo denso contendo quantidades variáveis de tecido adiposo, vasos sanguíneos, fibras nervosas e células ganglionares que integram o plexo submucoso (de Meissner). Este inerva os vasos da submucosa e o músculo liso da *muscularis mucosae*.

A *muscularis propria* do estômago é, tradicionalmente, descrita como sendo constituída por uma camada longitudinal externa, uma camada circular média e uma camada oblíqua interna. O músculo liso da muscular externa do estômago tem uma orientação mais aleatória. Além disso, a camada longitudinal está ausente em grande parte das paredes anterior e posterior do estômago e a camada circular é mal desenvolvida na região periesofágica. A disposição das camadas musculares é, funcionalmente, importante, uma vez que se relaciona com a respetiva tarefa de misturar o quimo durante o processo digestivo e com a sua capacidade para forçar o conteúdo, parcialmente, digerido para o interior do intestino delgado. Grupos de células ganglionares e feixes de fibras nervosas amielínicas estão presentes entre as camadas musculares. Em conjunto, representam o plexo mioentérico (de Auerbach) que inerva as camadas musculares.

A serosa ou adventícia constitui a camada mais externa. É constituída por epitélio pavimentoso simples, denominado mesotélio, e uma pequena quantidade de tecido conjuntivo subjacente. A serosa é contínua com o mesentério. Os vasos sanguíneos, os linfáticos de grande calibre e os troncos nervosos, percorrem toda a serosa (indo e vindo do mesentério) para alcançar a parede gástrica.

Microcirculação

Na cobaia, ao analisar a vascularização do estômago não identifiquei a existência de demarcação parietal, externa ou interna. Por outro lado, nos estômagos observados, foi

patente a homogeneidade da disposição anatômica da microcirculação nas diversas regiões da parede gástrica, facto de grande significado funcional quando entrosado com a anatomia dos outros constituintes parietais, como as glândulas gástricas.

Por microscopia eletrónica de varrimento, descrevendo a tessitura arteriolar pelas camadas da parede e a sua distribuição às glândulas gástricas, observei a mesma disposição, continuidade e homogeneidade do plexo arteriolar mucoso, cujos capilares formam anéis em torno das criptas gástricas nas várias regiões do estômago da cobaia e, não encontrei área aglandular.

Esta constatação mereceu-me investigação histológica adicional dado que, a ausência de glândulas, numa hipotética zona não glandular, sendo uma diferença histológica major, deveria condicionar uma variação ajustada da angioarquitetura desta área, mais consentânea com a alegada função fisiológica atribuída de armazenamento e auxílio mecânico na digestão dos alimentos.

Na análise histológica de todo o estômago de uma cobaia a que procedi, em conjunto com o Dr. Mário de Oliveira, Anatomopatologista e diretor do Serviço de Anatomia Patológica do CHLC, EPE confirmei que a mucosa gástrica da cobaia é sempre glandular (Figura 50). Não se observaram setores não glandulares, nem transição glandular/não glandular da mucosa gástrica. Tal constância glandular está em harmonia com o aspeto uniforme, em favo, da microvascularização da mucosa gástrica da cobaia que observei em todas as regiões do estômago (razão desta pesquisa); e está em desacerto com as referências à existência de dois tipos de mucosa no estômago da cobaia, frequentemente expressas em alguma literatura

No ser humano, a disposição microvascular através das camadas da parede gástrica apresenta muitas semelhanças, incluindo a organização dos capilares da mucosa que exhibe um carácter sinusoidal e forma anéis em torno das aberturas das criptas gástricas.

Resumo

A cobaia e o ser humano são espécies muito diferentes. A cobaia é um pequeno roedor, herbívoro e o homem é um ser muito mais complexo, omnívoro. Na cobaia estudei as características da anatomia vascular arterial e da histologia gástricas; no ser humano revii de forma sucinta algumas particularidades inerentes à espécie naqueles domínios. Apesar das naturais discrepâncias, a identificação de algumas analogias entre um animal de laboratório e o homem, visou a criação de um modelo de experimentação para a pesquisa das consequências da laqueação dos vasos curtos gástricos na operação de Nissen.

Em síntese, nas duas espécies existe um grande eixo arterial de onde emergem as artérias colaterais principais que fornecem o estômago. No ser humano é o tronco celíaco e na cobaia o tronco celíaco-mesentérico. Nas duas espécies o fornecimento da parede gástrica, assegurado pelas artérias colaterais principais, realiza-se da serosa para a mucosa que, em ambas, é sempre glandular. Apesar das especificidades, cada espécie é dotada de um rico plexo arteriolar mucoso que se dispõe em torno, contribui e assegura a irrigação glandular.

PARTE III – RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Capítulo 13 – Resultados Estatísticos (série de conveniência)

Em junho de 2012 foram selecionadas e operadas oito cobaias, adultas, do género feminino, com peso médio de 741,6 gramas, pertencendo quatro ao GE e quatro ao GC.

Todas sobreviveram à cirurgia no entanto, um dos animais GE teve eutanásia humana, ao quarto dia de pós-operatório, por manifesto sofrimento: quietude, recusa alimentar, perda ponderal acima de 20%, pelo eriçado e grunhidos. Nos restantes, o pós-operatório foi favorável apesar de, em alguns, as cicatrizes abdominais apresentarem algum grau de rilhadura. Com exceção do caso referido, o sacrifício das cobaias ocorreu aos oito dias de pós-operatório, como previsto.

Após realização da técnica de injeção-corrosão nas oito cobaias, analisei, em microscopia eletrónica de varrimento, os moldes vasculares do cárdia, do fundo e da região dos vasos curtos gástricos, metalizados com ouro paládio, e medi os seus calibres arteriulares com o sistema digital de registo de imagem *SemAfore*, versão 5-0.

Em cada região (cárdia, fundo, e vasos curtos gástricos), procedi a oito medições do calibre arteriolar – no plexo mucoso, no plexo submucoso e na base, no topo e no meio dos ramos de bifurcação dos vasos retos –.

Tendo efetuado 469 medições de calibres arteriulares no GC e 461 medições no GE, enviei esses dados ao Gabinete de Análise Epidemiológica e Estatística do Centro de Investigação do CHLC, EPE, que procedeu à sua análise. Verificou-se que a amplitude de valores do calibre arteriolar era muito elevada, em todos os segmentos e regiões, quer no GC quer no GE, com sobreposição entre os dois grupos.

No cárdia,

- Os calibres arteriulares do plexo mucoso e do plexo submucoso aumentaram no GE, sendo a diferença **estatisticamente significativa**, entre os calibres pré- e pós-operatórios.
- Não houve diferença, com significado estatístico, dos calibres arteriulares da base, topo e ramos dos vasos retos; mas,

No fundo gástrico,

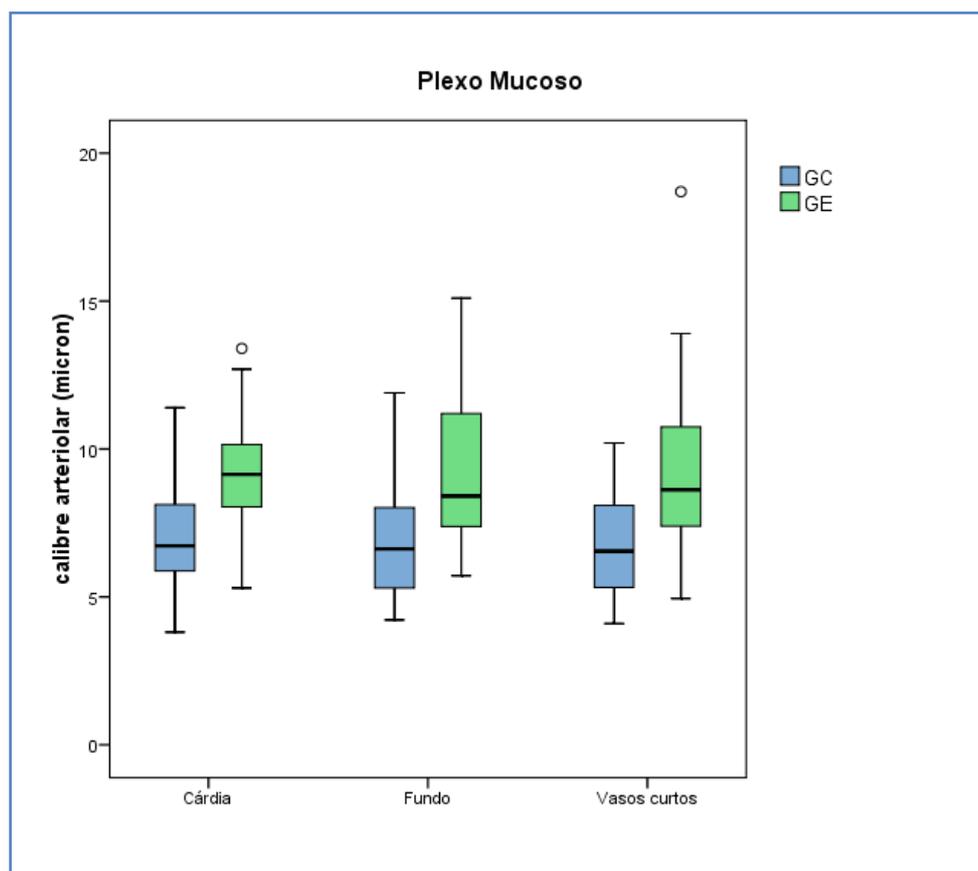
- Os calibres arteriulares do plexo mucoso e do plexo submucoso aumentaram no GE, sendo a diferença **estatisticamente significativa**, entre os calibres pré- e pós-operatórios.
- Os calibres arteriulares dos ramos dos vasos retos foram sobreponíveis. Os calibres arteriulares dos topos dos vasos retos ficaram iguais (GC, média = 44,38, com amplitude 40-70; e GE, média = 44,15, com amplitude 19-74,5).
- Nos calibres arteriulares da base dos vasos retos, houve diferença. As arteríolas dilataram no GE, e a diferença foi **estatisticamente significativa**.

Na região dos vasos curtos gástricos,

- Os calibres arteriulares do plexo mucoso e do plexo submucoso aumentaram no GE; a diferença foi mais pequena mas, continuou a ser **estatisticamente significativa**.
- Não houve diferença, com significado estatístico, dos calibres arteriulares da base, topo e ramos dos vasos retos.

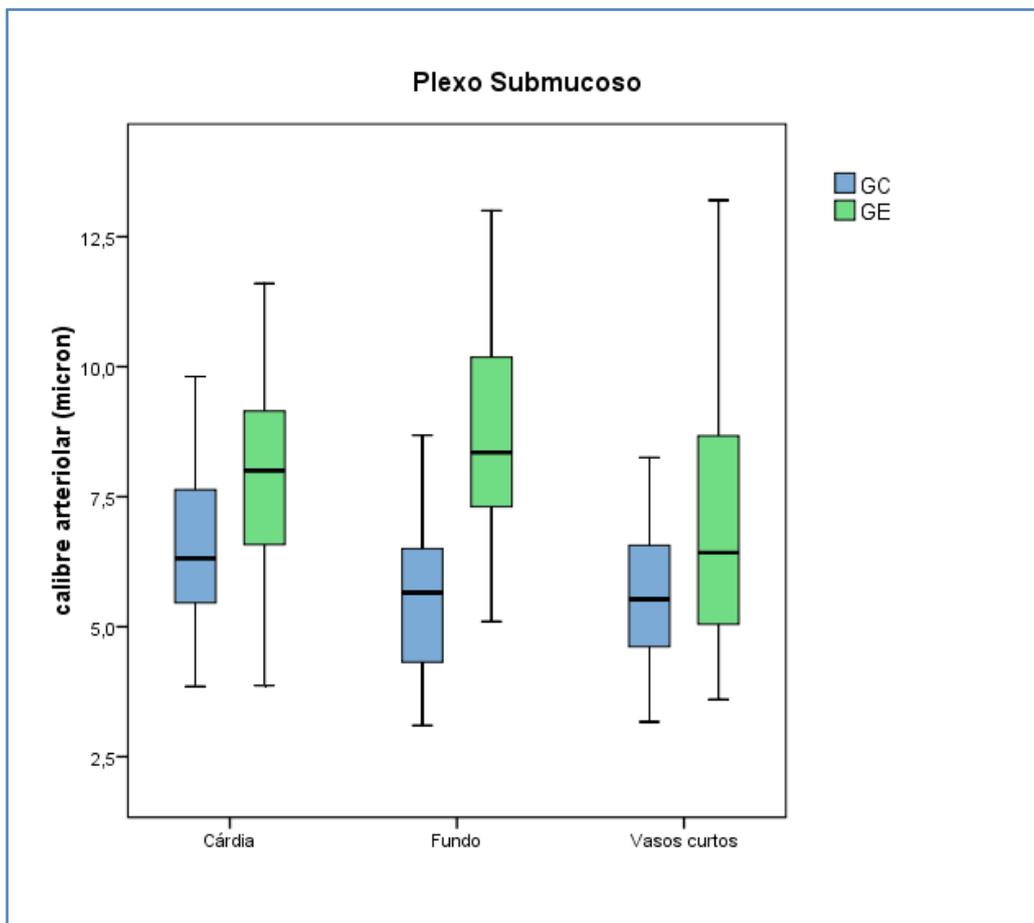
Análise gráfica dos dados

As Figuras 57 a 61 apresentam os calibres arteriulares em micron do plexo mucoso, do plexo submucoso e dos vasos retos (base, topo, ramos) no cárdia, no fundo e na região dos vasos curtos gástricos.



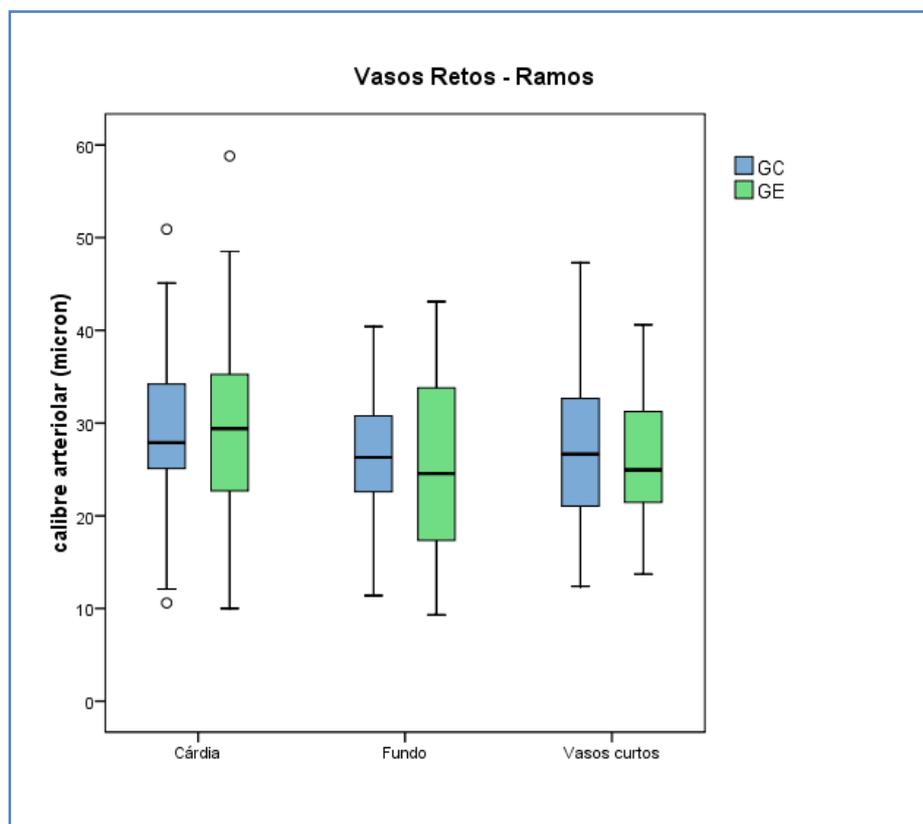
Plexo mucoso		Cárdia	Fundo	Região dos vasos curtos
GC	Mediana	6,7	6,6	6,5
	Mínimo – máximo	3,8 – 11,4	4,2 – 11,9	4,1 – 10,2
GE	Mediana	9,1	8,4	8,6
	Mínimo – máximo	5,3 – 13,4	5,7 – 15,1	5 – 18,7

Figura 57 – Calibre arteriolar do plexo mucoso (micron) no cárdia, no fundo e na região dos vasos curtos (GC n=32; GE n=32). Verificou-se maior calibre no grupo de intervenção (GE) do que no grupo de controlo (GC).



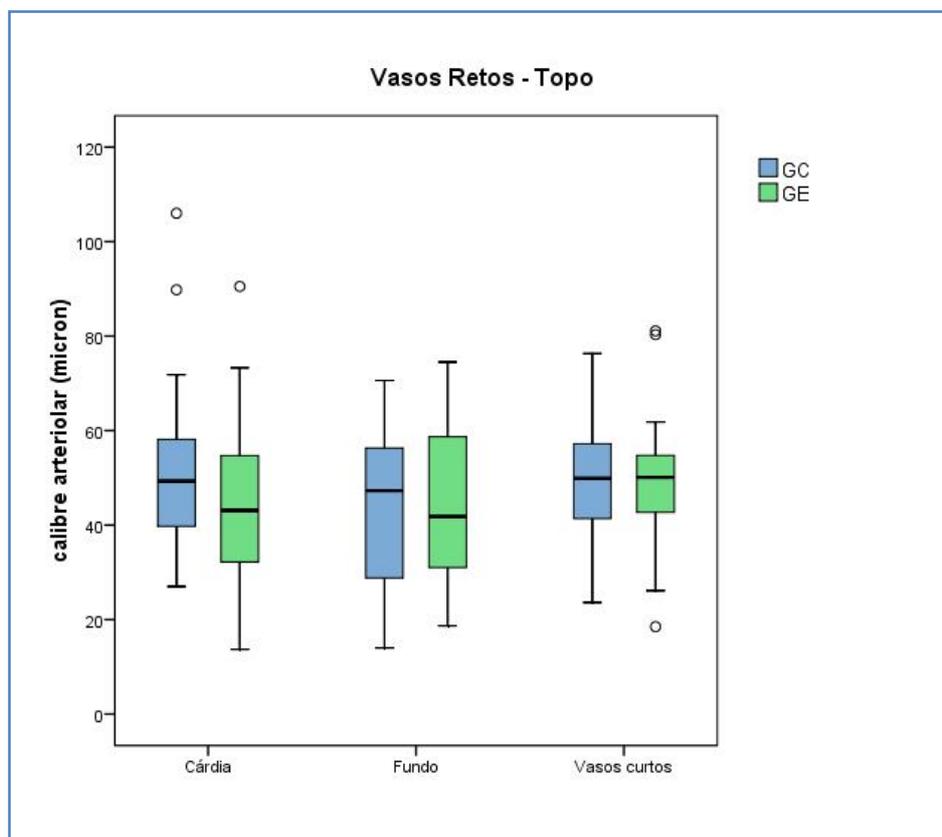
Plexo submucoso		Córdia	Fundo	Região dos vasos curtos
GC	Mediana	6,3	5,7	5,5
	Mínimo – máximo	3,8 – 9,8	3,1 – 8,7	3,2 – 8,2
GE	Mediana	8	8,4	6,4
	Mínimo – máximo	3,9 – 11,6	5,1 – 13	3,6 – 13,2

Figura 58 – Calibre arteriolar do plexo submucoso (micron) no córdia, no fundo e na região dos vasos curtos (GC n=32; GE n=32). Verificou-se maior calibre no grupo de intervenção (GE) do que no grupo de controlo (GC).



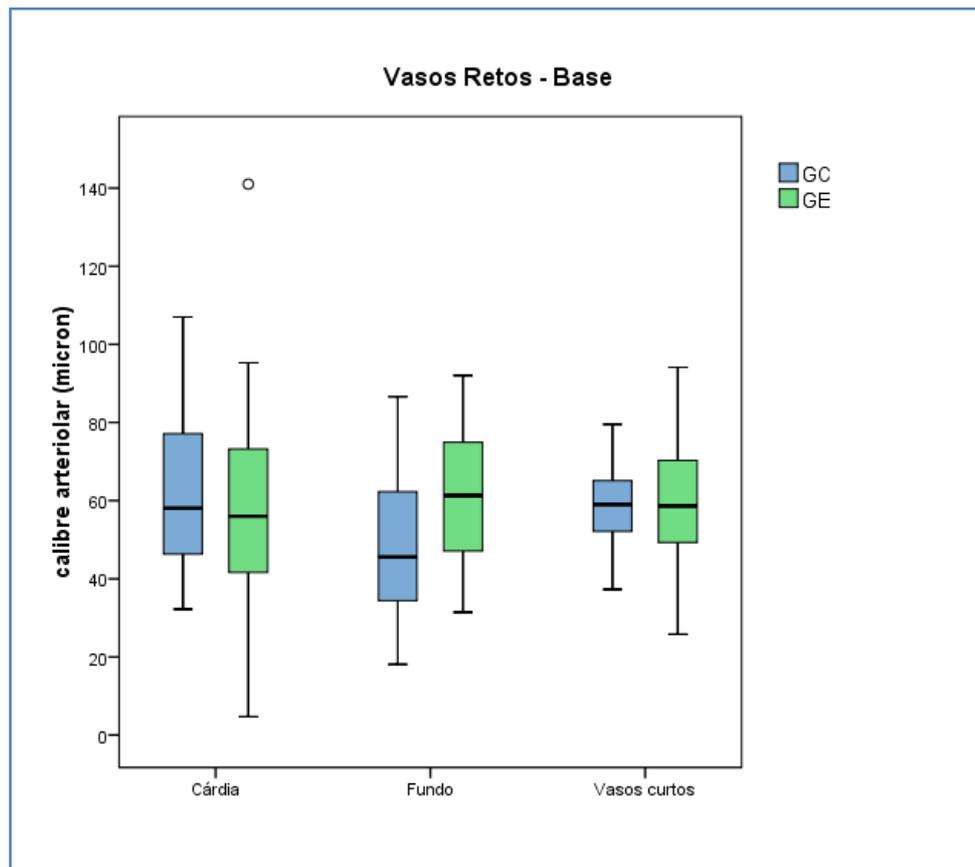
Vasos retos (ramos)		Córdia	Fundo	Região dos vasos curtos
GC	Mediana	28	26,3	26,7
	Mínimo – máximo	10,6 – 50,9	11,4 – 40,4	12,4 – 47,3
GE	Mediana	28,5	25	23,9
	Mínimo – máximo	10 – 58,8	9,3 – 43,1	13,7 – 40,6

Figura 59 – Calibre arteriolar dos ramos dos vasos retos (micron) no córdia (GC n=32; GE n=32), no fundo (GC n=31; GE n=32) e na região dos vasos curtos (GC n=32; GE n=32). Não se verificaram diferenças de calibre no grupo de intervenção (GE) em relação ao grupo de controlo (GC).



Vasos retos (topo)		Córdia	Fundo	Região dos vasos curtos
GC	Mediana	50,1	47,3	49,9
	Mínimo – máximo	27 – 106,5	14 – 70,6	23,6 – 76,3
GE	Mediana	42,6	42,4	48,7
	Mínimo – máximo	13,7 – 90,5	18,7 – 74,5	18,5 – 80,3

Figura 60 – Calibre arteriolar do topo dos vasos retos (micron) no córdia (GC n=31; GE n=30), no fundo (GC n=30; GE n=28) e na região dos vasos curtos (GC n=32; GE n=32). Não se verificaram diferenças de calibre no grupo de intervenção (GE) relativamente ao grupo de controlo (GC).



Vasos retos (base)		Córdia	Fundo	Região dos vasos curtos
GC	Mediana	58,1	45,6	59
	Mínimo – máximo	32,2 – 107	18,1 – 86,6	37,3 – 79,5
GE	Mediana	56	61,3	58,6
	Mínimo – máximo	4,7 – 141	31,4 – 92	25,8 – 94,1

Figura 61 – Calibre arteriolar da base dos vasos retos (micron) no córdia (GC n=27; GE n=27), no fundo (GC n=30; GE n=27) e na região dos vasos curtos (GC n=32; GE n=29). Verificou-se maior calibre no grupo de intervenção (GE) do que no grupo de controlo (GC) no fundo gástrico; não se verificaram diferenças de calibre no córdia e na região dos vasos curtos.

A ANOVA revelou diferença de calibres entre os segmentos vasculares e entre as medições efetuadas no GC e no GE, mas não entre regiões gástricas; verificou-se ainda interação significativa ($p=0,024$) entre o segmento vascular e o grupo de intervenção (Tabela 44) e (Figuras 62 e 63). Demonstrou-se assim que os calibres medidos nos diferentes segmentos foram influenciados pelo facto das cobaias pertencerem ao GE ou ao GC, isto é, os calibres vasculares foram superiores nas cobaias do GE em alguns dos segmentos (Figura 63).

Análise de variância (ANOVA)

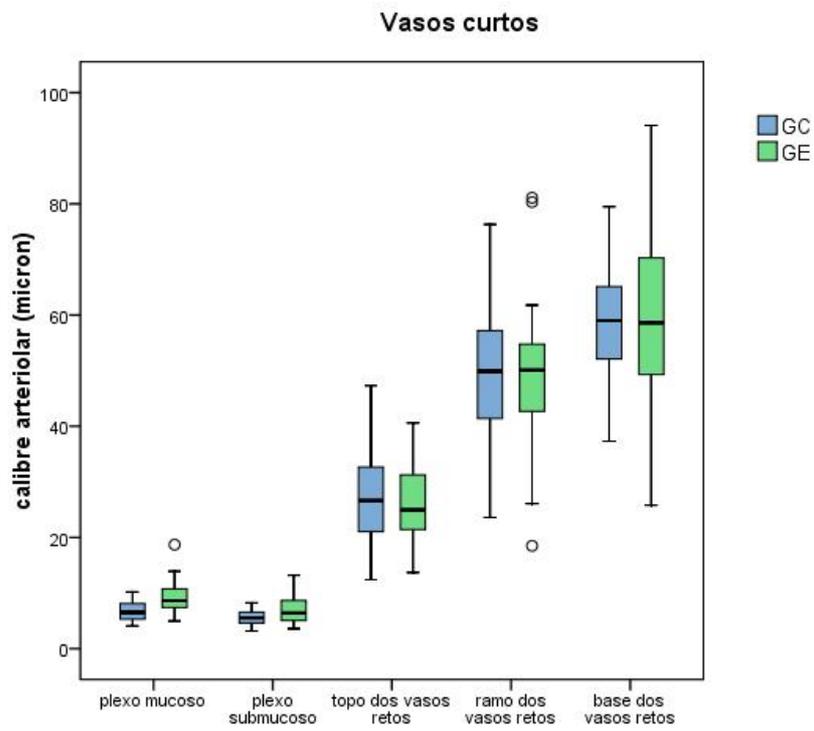
Variável dependente: calibre do vaso

	Soma de Quadrados Tipo III	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	F	Significância (valor p)
Modelo Corrigido	393970,194 ^a	29	13585,179	110,609	0,000
Interceção	811131,841	1	811131,841	6604,126	0,000
grupo	293,865	1	293,865	2,393	0,122
segmento	388501,416	4	97125,354	790,782	0,000
região	806,091	2	403,046	3,282	0,038
grupo * segmento	1392,457	4	348,114	2,834	0,024
grupo * região	546,321	2	273,160	2,224	0,109
segmento * região	1098,036	8	137,255	1,118	0,349
grupo * segmento * região	1245,223	8	155,653	1,267	0,257
Erro	110539,777	900	122,822		
Total	1275071,469	930			
Total Corrigido	504509,972	929			

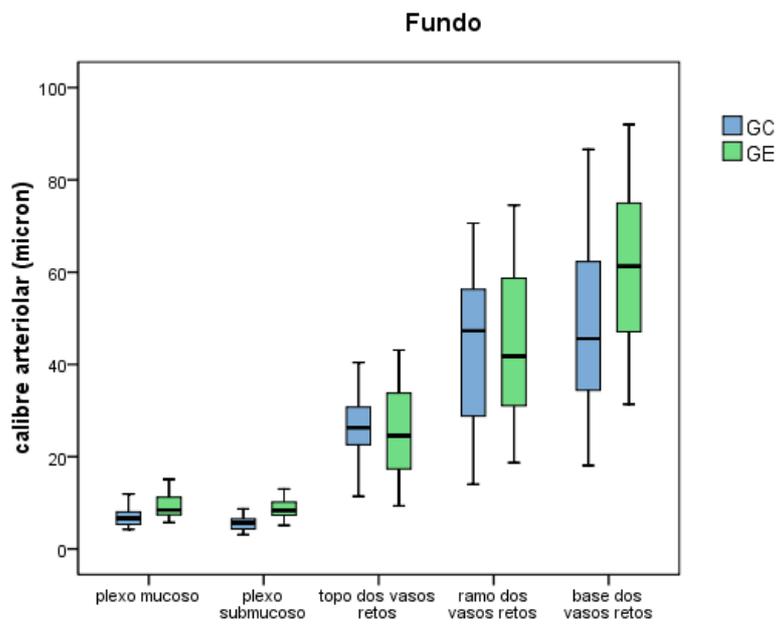
a. $R^2 = 0,781$ (R^2 ajustado = 0,774)

Tabela 44 – Análise de variância ANOVA a dois fatores do calibre arteriolar pelo segmento vascular, região do estômago e grupo de intervenção.

(6-A)



(6-B)



(6-C)

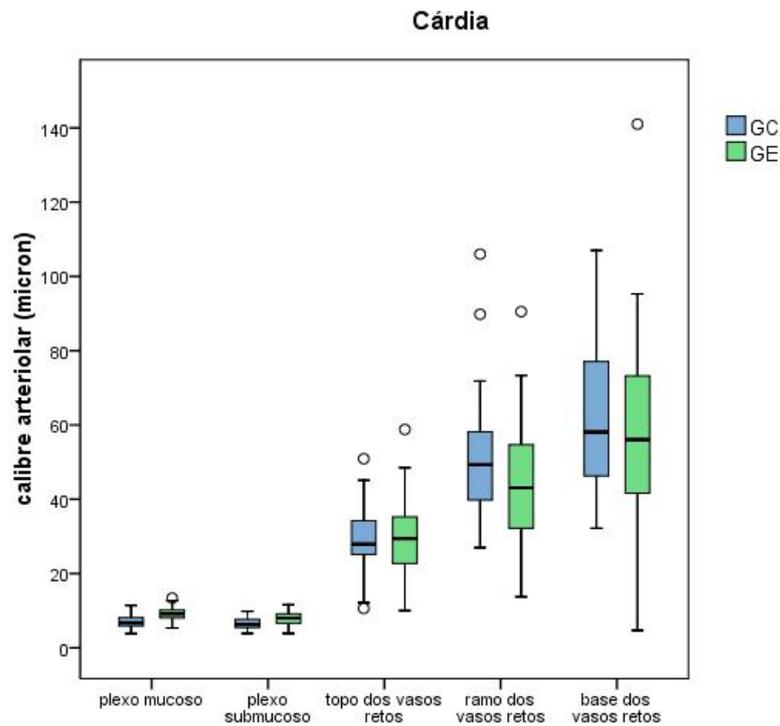


Figura 62 – Calibre arteriolar (micron) na região dos vasos curtos (A), no fundo gástrico (B) e no cárdia (C), nos diferentes segmentos, da base dos vasos retos dos plexos mucoso e submucoso. Verificou-se diminuição do calibre dos vasos retos nos plexos mucoso e submucoso.

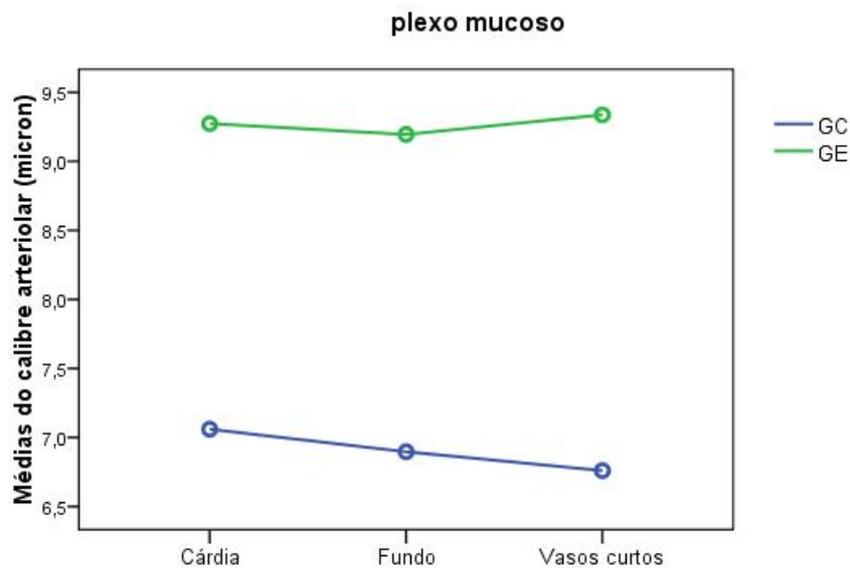


Figura 63 – Calibre arteriolar médio (micron) no plexo mucoso na região dos vasos curtos, no fundo gástrico e no cárdia. Verificou-se maior calibre das arteríolas do plexo mucoso no grupo de intervenção (GE).

Analisando apenas as medições realizadas nas peças do fundo gástrico (GE n=151, GC n=155), verificou-se diferença de calibres entre os segmentos vasculares e entre as medições efetuadas no GE e no GC; verificou-se ainda interação significativa (p=0,010) entre o segmento vascular e o grupo de intervenção (Tabela 45).

Análise de variância (ANOVA)

Variável dependente: calibre do vaso

	Soma de Quadrados Tipo III	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	F	Significância (valor p)
Modelo Corrigido	114522,487 ^a	9	12724,721	104,034	0,000
Intercepção	244169,348	1	244169,348	1996,259	0,000
grupo	812,669	1	812,669	6,644	0,010
segmento	112941,845	4	28235,461	230,845	0,000
grupo * segmento	1729,437	4	432,359	3,535	0,008
Erro	36204,784	296	122,313		
Total	378741,242	306			
Total Corrigido	150727,271	305			

a. R2 = 0,760 (R2 ajustado = 0,752)

Tabela 45 – Análise de variância ANOVA do calibre arteriolar no fundo gástrico pelo segmento vascular e grupo de intervenção.

Os calibres arteriolarres do plexo mucoso e do plexo submucoso foram significativamente maiores no GE do que no GC, em todas as regiões estudadas. No fundo gástrico, verificou-se maior calibre na base dos vasos retos no GE do que no GC.

Resumo

As arteríolas do plexo mucoso e as do plexo submucoso do cárdia, do fundo e da região dos vasos curtos gástricos, mostraram aumento de calibre no GE.

O aumento foi estatisticamente significativo por ser superior a 50% do calibre do GC. Nos vasos curtos, a diferença foi mais pequena, mas persistiu sendo estatisticamente significativa.

Os vasos retos dilataram na base, na sua emergência do plexo seroso, apenas no fundo gástrico.

PARTE IV – DISCUSSÃO

Capítulo 14 – Discussão dos Resultados

Resultados da cirurgia antirefluxo

O tratamento cirúrgico da DRGE destina-se a tratar os sintomas, restaurando a barreira gastresofágica, mecanicamente, defeituosa. Este objetivo deve ser obtido sem causar morbidade pós-operatória como disfagia e síndrome “*gas-bloat*”. Disfagia temporária, por edema pós-operatório da funduplicatura, é frequente mas, geralmente, resolúvel dentro de 3 meses, sem necessidade de intervenção, como dilatação. No entanto, tem sido referida disfagia persistente, além dos 3 meses, até 10% dos doentes. Flatulência e distensão, comuns após cirurgia antirefluxo, estão relacionados com a tendência dos doentes com DRGE para engolir ar e saliva, em excesso, a fim de neutralizar o refluxo ácido. A incapacidade de vomitar é outra consequência da cirurgia antirefluxo. É essencial controlar as náuseas no pós-operatório de modo a prevenir os vômitos, que podem causar subsequente interrupção da reparação.

A operação de Nissen, por laparoscopia, proporciona aumento, significativo, da pressão e do comprimento do EEI, restaurando, em regra, os seus valores normais. Por ser a que melhor replica a fisiologia normal da válvula gastresofágica, na maioria dos doentes com sintomas típicos de doença do refluxo gastresofágico (DRGE), é considerada a cirurgia antirefluxo mais adequada. São critérios técnicos o encerramento seguro dos pilares do diafragma e a criação de funduplicatura completa (360 graus), curta (inferior a dois centímetros), lassa e sem tensão – desiderando para o qual a laqueação proximal dos vasos curtos gástricos é crucial.

Estudos de pHmetria de 24 horas após operação de Nissen, por laparoscopia, indicaram que mais de 90% dos doentes normalizaram a exposição do esófago ao ácido. Análises dos resultados da funduplicatura laparoscópica, a longo prazo, mostraram alívio dos sintomas típicos de DRGE, como pirose, regurgitação e disfagia em mais de 90% dos doentes no intervalo de seguimento de dois a três anos e em 80-90 % dos pacientes aos cinco anos.²⁶⁴

Um estudo randomizado, com onze anos de catamnese, demonstrou que a técnica de Nissen, quer realizada por laparotomia quer por laparoscopia, tem resultado sintomático semelhante a longo prazo apesar de haver, significativamente, maior incidência de hérnia incisional quando por laparotomia. Com tais resultados, os seus autores propuseram a abordagem laparoscópica como o procedimento de escolha no tratamento cirúrgico da DRGE.²⁶⁵

Os resultados após cirurgia antirefluxo da DRGE com sintomas atípicos como tosse, asma, laringite – os quais apenas são aliviados em dois terços dos doentes – são menos previsíveis; provavelmente, por ser mais difícil documentar a correlação entre episódios de refluxo e sintomas atípicos. Tal poderá esclarecer-se recorrendo à realização de impedanciometria intraluminal esofágica, multicanal, combinada com pHmetria de 24 horas, que é um exame auxiliar esofágico objetivo e fiável.²⁶⁶

As análises da qualidade de vida são importante instrumento de avaliação dos resultados operatórios, especialmente, no tratamento cirúrgico da DRGE. Questionários da doença, globais e específicos, têm sido utilizados para quantificar a qualidade de vida antes e

depois da intervenção cirúrgica. Na maioria dos estudos foi utilizado o “*Short Form 36 (SF-36)*”, instrumento que se encontra validado. O “*GERD Health-Related Quality of Life Scale (GERD-HRQL)*” é um questionário específico para a DRGE, vulgarmente usado nos EUA, para aferir a gravidade dos sintomas da doença. Comparando a qualidade de vida após cirurgia antirefluxo com o tratamento não cirúrgico da DRGE grave, Fernando *et al*, mostraram que tanto o *SF-36* como o *GERD-HRQL* foram superiores nos doentes submetidos a funduplicatura laparoscópica em comparação com os que realizaram apenas terapêutica médica. A funduplicatura laparoscópica deve ser considerada nos doentes insatisfeitos com o tratamento médico.²⁶⁷

Resultados experimentais

No Projeto, a operação de Nissen, com funduplicatura total e laqueação dos vasos curtos gástricos, associou-se no GE a calibre arteriolar significativamente maior do que no GC, nas arteríolas do plexo mucoso e do plexo submucoso do cárdia, do fundo, da região dos vasos curtos do estômago e, também, da base dos vasos retos do fundo gástrico.

A metodologia de experimentação animal do Projeto foi robusta, tendo sido orientada pelos princípios dos 3R – *Replacement, Reduction, Refinement* – da técnica de experimentação humana de Russell e Burch (1959). Para diminuição do desconforto dos animais utilizados, zelei pelo bem-estar dos mesmos; desenhei e aperfeiçoei o protocolo de anestesia/analgesia; usei eletrocirurgia, tendo a pinça *Precise Ligasure, Covidien* permitido efetuar a laqueação dos vasos curtos gástricos com rigor e segurança; e observei os critérios de eutanásia humana.

Para limitar o número de animais envolvidos no Projeto ao mínimo necessário, calculei, por método estatístico, a quantidade de cobaias necessárias em cada grupo experimental, de modo a evitar, tanto a escassez, como o excesso do número de animais utilizados. A escassez retira potência de deteção dos efeitos, biologicamente, significativos enquanto o excesso implica perda de tempo e de recursos e conduz ao desnecessário sacrifício de animais.

Para validação do modelo experimental, procurei analogias anatómicas entre a cobaia e o ser humano. O estudo histológico da parede do estômago da cobaia constituiu uma dessas afinidades, ao confirmar-me que toda a mucosa gástrica é glandular, um aspeto que, não sendo consensual na literatura, eu intuía, assim dever ser, ao observar a constância da microcirculação arteriolar mucosa em toda a parede do estômago.

A integração numa equipa de investigadores do Centro de Investigação do Departamento de Anatomia da FCM-UNL deu-me a oportunidade de utilizar as técnicas de injeção vascular lá disponíveis.

Nos modelos que associam a moldagem arterial e venosa, os capilares arteriais e os venosos, que fornecem e drenam a mucosa do estômago, correm paralelos no plexo submucoso, possuindo as arteríolas menor diâmetro que as vénulas.

Para o estudo da circulação venosa do estômago de roedores – que não foi o objetivo do Projeto –, estão descritos modelos de cateterização retrógrada da veia porta, que incluem a laqueação da veia mesentérica, de modo a obstar a dispersão do meio de contraste para o sistema vascular intestinal. Na sua execução, com opção pelo

Mercox®, haveria vantagem na polimerização parcial prévia, durante cinco minutos, pela adição de catalisador, e injetar com o estômago exposto, para monitorização do grau de preenchimento.²⁶⁸

Não excluo a possibilidade de ter realizado medições em vénulas no plexo submucoso. O Projeto foi concebido para contrastação do sistema arterial da parede gástrica da cobaia. No entanto, o Mercox®, pela sua baixa viscosidade, facilmente atravessa os capilares e passa à vascularização venosa. Como, neste caso, me propus estudar as redes capilares, e como, pelos diminutos calibres microvasculares, a diferença entre arteríolas pré-capilares e vénulas pós-capilares se torna irrelevante, a técnica escolhida é, plenamente, aplicável. Para um estudo de conjunto, estaria indicado um material como o Perspex, pigmentado de colorações diferentes, e a técnica de injeção-corrosão-fluorescência, injetando com corante vermelho por via arterial e com corante azul por via venosa.

Por razões académicas, foi necessário abreviar o Projeto após ter recrutado 80% do número de animais previsto. Contudo, foi possível obter resultados, estatisticamente, significativos num lote de conveniência de, apenas, oito cobaias. Com amostragem efetiva de quatro cobaias por grupo consegui evidenciar a existência de vasodilatação, ao verificar no GE uma diferença, estatisticamente, significativa de aumento do calibre arteriolar em quase todos os locais anatómicos em estudo, sendo que, naqueles em que não foi encontrada diferença significativa, excluiu-se a possível diferença com elevado nível de significância.

A variabilidade de calibre que encontrei foi muito grande em todos os níveis da rede arteriolar do estômago, quer no GE, quer no GC. Tendo a amplitude sido tão grande, terá havido sobreposição entre os valores, nos grupos GC e GE. Algumas diferenças de calibre arteriolar poderão não ter sido de magnitude suficiente para serem detetadas com a potência deste estudo; eventualmente, poderiam sê-lo num estudo com maior dimensão da amostra.

Translação possível dos resultados experimentais para o ser humano

Na cobaia a operação de Nissen – funduplicatura total com laqueação dos vasos curtos gástricos –, provocou vasodilatação arteriolar do fundo gástrico. Considero que essa vasodilatação constituiu acomodação à modificação operatória introduzida e infiro que o mesmo possa acontecer no ser humano.

Admito que, também, ocorra vasodilatação no ser humano, na sequência da laqueação dos vasos curtos gástricos, pela analogia microvascular entre as duas espécies e que essa vasodilatação corresponda, igualmente, a um mecanismo de adaptação arteriolar visando, por exemplo, suprir a perda incorrida pela laqueação.

As características fisiológicas da microcirculação esplâncnica – na qual o estômago se inclui –, são determinadas por três circuitos paralelos que existem na *muscular propria*, na submucosa e na mucosa. Cada um destes circuitos, dispostos em série, contém arteríolas (a matriz linear de resistência), esfíncteres pré-capilares (“gating” – abertura/fecho), capilares (trocas), esfíncteres pós-capilares e vénulas (vasos de capacitância). A perfusão tecidual e a libertação de oxigénio são, principalmente, determinadas pela resistência das arteríolas, que é o elemento regulador da primeira

linha da microcirculação do leito esplâncnico, sendo a autorregulação do fluxo sanguíneo mediada por ajustamentos do tónus arteriolar. Os esfíncteres pré-capilares desempenham papel importante na eficiência da troca capilar, regulando a densidade da perfusão capilar, que determina a distância eficaz para a difusão de oxigénio e dos nutrientes do capilar para a célula. Estes esfíncteres não afetam, significativamente, a resistência vascular, dado estarem localizados a montante dos principais elementos de resistência. Os esfíncteres pós-capilares controlam a resistência capilar final. A diferença entre a resistência pós-capilar e a pré-capilar determina a pressão hidrostática capilar média que, por sua vez, influencia a troca dos fluidos e dos solutos que passam do capilar para o interstício.²⁶⁹ A vasodilatação poderá, assim, corresponder ao ajustamento do tónus arteriolar da matriz linear de resistência ou resultar de influência sobre os esfíncteres arteriolares pré-capilares.

Acomodação da microcirculação

No âmbito da acomodação à modificação introduzida é possível que a laqueação dos vasos curtos gástricos conduza a mudança na microcirculação do fundo gástrico, com redistribuição sanguínea. Na origem desta transformação poderão estar fenómenos compensatórios de ajustamento local do tónus arteriolar cuja etiologia não é compreensível pela técnica de injeção-corrosão utilizada.

Temporário ou definitivo, o mecanismo de ajustamento causador, no GE, de vasodilatação nas arteríolas do plexo mucoso e do plexo submucoso do cárdia, do fundo, da região dos vasos curtos do estômago e, também, da base dos vasos retos do fundo gástrico, aos oito dias de laqueação dos vasos curtos gástricos e funduplicatura total, poderia ser melhor compreendido, na sua etiologia e evolução, recorrendo a outros métodos, complementares deste estudo angiomorfológico, capazes de proporcionar informação sobre a fisiopatologia da microcirculação gástrica após a operação de Nissen, como a que realizei no Projeto.

Nos considerandos seguintes explicito, sucintamente, três reflexões adicionais – referentes ao ser humano –, porventura relacionáveis com a vasodilatação arteriolar no contexto em análise: uma, a ação do sistema nervoso autónomo; outra, o desenvolvimento de circulação colateral na isquémia; e outra, a inflamação aguda.

*Sistema nervoso autónomo e controlo da microcirculação gastrintestinal*²⁷⁰

O trato gastrintestinal tem um sistema nervoso próprio, o sistema nervoso entérico, localizado, inteiramente, na parede intestinal, que começa no esófago e se estende até ao ânus. O sistema nervoso entérico, bastante desenvolvido e, especialmente, importante no controlo dos movimentos e da secreção gastrintestinal, é composto por dois plexos, um externo – o plexo mioentérico de *Auerbach* – disposto entre as camadas musculares, longitudinal e circular, e outro interno – o plexo de *Meissner* – localizado na submucosa. Existem conexões nervosas no interior e entre esses dois plexos. O plexo mioentérico controla quase todos os movimentos gastrintestinais, e o plexo submucoso controla, essencialmente, a secreção gastrintestinal e o fluxo sanguíneo local.

As fibras nervosas extrínsecas, simpáticas e parassimpáticas, conectam-se com os plexos mioentérico e submucoso. A estimulação pelos sistemas, parassimpático e simpático, pode intensificar ou inibir as funções gastrintestinais. Terminações nervosas

sensoriais, que se originam no epitélio gastrointestinal ou na parede intestinal, enviam fibras aferentes para os dois plexos do sistema entérico, bem como para os gânglios pré-vertebrais do sistema nervoso simpático, a medula espinhal e o tronco cerebral pelos nervos vagos. Esses nervos sensoriais podem provocar reflexos locais na própria parede intestinal e, ainda, outros reflexos que são transmitidos ao intestino pelos gânglios pré-vertebrais e das regiões basais do cérebro.

As fibras nervosas parassimpáticas cranianas estão, quase todas, nos nervos vagos. Essas fibras formam a extensa inervação do esôfago, estômago e pâncreas. Os neurónios pós-ganglionares do sistema parassimpático gastrointestinal estão localizados, na sua maior parte, nos plexos mioentérico e submucoso. A estimulação desses nervos parassimpáticos causa aumento da atividade de todo o sistema nervoso entérico, o que, por sua vez, intensifica a atividade da maioria das funções gastrintestinais.

As fibras simpáticas do trato gastrointestinal originam-se da medula espinhal, entre os segmentos T-5 e L-2. Grande parte das fibras pré-ganglionares que inervam o intestino, depois de sair da medula, entra nas cadeias simpáticas, dispostas, lateralmente, à coluna vertebral, e muitas dessas fibras passam por essas cadeias até gânglios mais distantes, como o gânglio celíaco e diversos gânglios mesentéricos. A maior parte dos corpos dos neurónios simpáticos pós-ganglionares encontra-se nesses gânglios, e as fibras pós-ganglionares distribuem-se pelos nervos simpáticos pós-ganglionares a todas as partes do intestino. O simpático inerva, igualmente, todo o trato gastrointestinal. Os terminais dos nervos simpáticos segregam, principalmente, norepinefrina, mas, também, pequenas quantidades de epinefrina. A estimulação simpática inibe a atividade do trato gastrointestinal.

Anatomia da circulação sanguínea intestinal

As artérias, ao entrarem na parede do intestino, ramificam-se em artérias menores que percorrem o perímetro intestinal. As extremidades dessas pequenas artérias convergem para o lado, diametralmente, oposto da artéria maior de que se originaram. Dessas artérias perimétricas destacam-se arteríolas que penetram na parede intestinal, espalhando-se pelos feixes musculares, pelas vilosidades intestinais e pelos vasos submucosos sob o epitélio, servindo as funções secretoras e absorptivas do intestino.

A organização especial do fluxo sanguíneo numa vilosidade intestinal inclui a pequena arteríola e a vênula interconectadas por sistemas de múltiplas alças capilares. As paredes das arteríolas são muito musculosas e muito ativas no controlo do fluxo sanguíneo para a vilosidade.

Sob condições normais, o fluxo sanguíneo, em cada área do trato gastrointestinal, bem como em cada camada da parede intestinal, está diretamente relacionado com o nível local de atividade. Por exemplo, o fluxo sanguíneo pelas vilosidades e nas regiões adjacentes da submucosa aumenta, cerca de oito vezes, durante a absorção ativa de nutrientes. De igual modo, o fluxo sanguíneo nas camadas musculares da parede intestinal aumenta quando a atividade motora do intestino é mais intensa.

Causas do aumento do fluxo sanguíneo durante a atividade gastrintestinal

Várias substâncias vasodilatadoras são libertadas pela mucosa do trato intestinal, durante o processo digestivo. Na sua maioria, são hormonas peptídicas, como colecistoquinina, peptídeo intestinal vasoativo, gastrina e secretina. Essas hormonas controlam as atividades motoras e secretoras específicas do intestino.

Algumas glândulas gastrintestinais, também, libertam dois mediadores inflamatórios (cininas) – a calidina e a bradicinina – na parede intestinal, ao mesmo tempo que segregam outras substâncias para o lúmen. As cininas são potentes vasodilatadores que se supõe causarem grande parte da vasodilatação intensa, que ocorre na mucosa, simultaneamente, com a secreção.

A redução da concentração de oxigénio na parede intestinal pode aumentar o fluxo de sangue intestinal em 50% a 100%. A intensidade metabólica da mucosa e da parede intestinal, mais acentuada durante a atividade intestinal, diminui, provavelmente, a concentração de oxigénio o suficiente para causar grande parte da vasodilatação. A diminuição do oxigénio pode ainda quadruplicar a concentração de adenosina, vasodilatador, que poderia ser responsável por grande parte do aumento do fluxo.

Controlo nervoso do fluxo sanguíneo gastrintestinal

A estimulação dos nervos parassimpáticos, para o estômago e o cólon distal, aumenta o fluxo sanguíneo local, ao mesmo tempo que aumenta a secreção glandular. É provável que esse aumento do fluxo seja consequência da maior atividade glandular e não efeito direto da estimulação nervosa. Por outro lado, a estimulação simpática tem efeito direto em todo o trato gastrintestinal causando vasoconstrição intensa das arteríolas, com grande redução do fluxo sanguíneo. Depois de alguns minutos de vasoconstrição, o fluxo, em geral, retorna a valores próximos dos normais por meio do mecanismo denominado "escape autorregulador". Isto é, os mecanismos vasodilatadores metabólicos locais, provocados pela isquémia, predominam sobre a vasoconstrição simpática e dilatam as arteríolas, com retorno do fluxo sanguíneo nutriente, necessário às glândulas e à musculatura gastrintestinal.

Controlo local e humoral do fluxo sanguíneo nos tecidos

O oxigénio é um dos nutrientes metabólicos mais necessários. O fluxo sanguíneo pelo tecido aumenta, intensamente, na medida em que a disponibilidade de oxigénio diminui. Existem duas teorias para explicar a regulação do fluxo sanguíneo local quando a intensidade do metabolismo tecidual ou a disponibilidade de oxigénio se alteram.

Teoria da vasodilatação para a regulação aguda do fluxo sanguíneo local

Os tecidos libertam substâncias vasodilatadoras em resposta à deficiência de oxigénio. Algumas delas são: a adenosina, o dióxido de carbono, os compostos fosfatados de adenosina, a histamina, os iões potássio e os hidrogeniões. A redução do oxigénio disponível provoca tanto a libertação de adenosina como a de ácido láctico (contendo iões hidrogénio) nos espaços entre as células teciduais; essas substâncias causam intensa vasodilatação aguda e, portanto, são responsáveis, pelo menos em parte, pela regulação local do fluxo sanguíneo. Substâncias vasodilatadoras como dióxido de carbono, ácido láctico e iões potássio, tendem a aumentar nos tecidos quando o fluxo sanguíneo é

reduzido e o metabolismo celular continua na mesma intensidade, ou quando o metabolismo celular é, subitamente, aumentado. À medida que a concentração dos metabólitos vasodilatadores aumenta, essas substâncias difundem-se até aos esfíncteres pré-capilares e causam vasodilatação das arteríolas, aumentando o fluxo sanguíneo tecidual para repor a normal concentração tecidual dos metabólitos.

Teoria da falta de nutrientes (oxigénio) para o controlo local do fluxo sanguíneo.

O oxigénio é necessário como um dos nutrientes metabólicos que provocam a contração do músculo vascular. Assim, na ausência de quantidades adequadas de oxigénio os vasos sanguíneos relaxariam resultando, naturalmente, em dilatação. Além disso, o aumento da utilização de oxigénio pelos tecidos, como resultado do metabolismo mais intenso, teoricamente diminuiria a disponibilidade de oxigénio para as fibras musculares lisas nos vasos sanguíneos locais, o que por sua vez também causaria vasodilatação local.

Na origem do capilar, existe o esfíncter pré-capilar, e em redor das metarteríolas existem diversas outras fibras musculares lisas. Os esfíncteres pré-capilares estão, em regra, completamente, abertos ou fechados. O número de esfíncteres pré-capilares abertos, a qualquer momento, é quase proporcional às necessidades nutricionais do tecido. Os esfíncteres pré-capilares e as metarteríolas abrem e fecham de forma cíclica várias vezes por minuto; a duração das fases abertas é proporcional às necessidades metabólicas de oxigénio pelos tecidos. A abertura e o encerramento cíclicos constituem a vasomotilidade.

Como o músculo liso precisa de oxigénio para permanecer contraído, pode assumir-se que a força de contração dos esfíncteres aumentaria após o aumento da concentração de oxigénio. Consequentemente, quando a concentração de oxigénio no tecido se elevasse acima de certo nível, os esfíncteres pré-capilares e as metarteríolas, supostamente, fechariam até que as células teciduais consumissem o excesso de oxigénio. Mas quando o excesso de oxigénio fosse consumido e sua concentração caísse o suficiente, os esfíncteres abrir-se-iam de novo reiniciando o ciclo.

Tanto a teoria da vasodilatação como a teoria da falta de oxigénio poderão explicar a regulação local aguda do fluxo sanguíneo em resposta às necessidades metabólicas teciduais. Provavelmente, a verdade reside em uma combinação dos dois mecanismos.

Possível contribuição de outros nutrientes além do oxigénio no controlo local do fluxo sanguíneo

A falta de glicose no sangue que perfunde os tecidos pode ocasionar vasodilatação tecidual local. É possível que esse mesmo efeito ocorra quando outros nutrientes, tais como aminoácidos ou ácidos gordos, estejam deficientes, embora isso necessite de mais estudos. Também ocorre vasodilatação no beribéri, por deficiência de vitaminas do complexo B – tiamina (B1), riboflavina (B2), e niacina (B3) –. Nessa patologia, o fluxo sanguíneo vascular periférico com frequência aumenta duas a três vezes em quase todas as partes do organismo. Como todas aquelas vitaminas são necessárias para a fosforilação induzida pelo oxigénio, necessária para a produção de ATP nas células teciduais, é possível entender que a sua deficiência possa conduzir à diminuição da capacidade contrátil do músculo liso e por conseguinte a vasodilatação local.

Importância e interação dos mecanismos neural e metabólico

Existe interação contínua entre o mecanismo neural e o metabólico que, assim, determinam pressões adequadas e fluxos proporcionais à atividade metabólica dos tecidos. Quando aumenta a atividade metabólica, os mediadores químicos promovem vasodilatação, aumentando o fluxo regional. Quando a taxa metabólica diminui, existem menos mediadores vasodilatadores e ocorre vasoconstrição das arteríolas, fazendo com que o fluxo sanguíneo fique proporcional a atividade metabólica.

Concatenação com o presenciado no modelo experimental

O subgrupo animal GE mostrou-se muito sensível à experimentação, apesar do empenho em diagnosticar e mitigar os prejuízos surgidos na realização da laqueação proximal dos vasos curtos e da funduplicatura completa. O efeito benéfico demonstrado pela utilização da atropina que, no imediato, possibilitou a sobrevivência regular das cobaias subentende a importância do sistema nervoso autónomo na regulação deste importante sector gástrico. Será remoto o eventual contributo do sistema parassimpático para a vasodilatação arteriolar, que sucedeu ao oitavo dia de pós-operatório no GE, dada a cautela em não efetuar algum tipo de vagotomia durante a realização da operação de Nissen.

Isquémia e desenvolvimento de circulação colateral

A obstrução arterial ou venosa é sucedida, em regra, pelo desenvolvimento de um novo canal vascular em redor do bloqueio que possibilita a perfusão parcial do tecido afetado. O primeiro estágio desse processo é a dilatação de pequenas alças vasculares que já conectavam o vaso a montante do bloqueio com o vaso a jusante. Essa dilatação sucede nos primeiros minutos, indicando que é, provavelmente, mediada por fatores metabólicos que relaxam as fibras musculares dos capilares envolvidos. Após essa abertura inicial dos vasos colaterais, o fluxo sanguíneo é, frequentemente, inferior a um quarto do necessário para suprir as necessidades teciduais. Nas horas subsequentes ocorre maior abertura. Assim, após um dia, metade das carências dos tecidos pode ser suprida e, após alguns dias, o fluxo de sangue é, em geral, suficiente para suprir na totalidade.

Os vasos colaterais continuam a crescer por vários meses após a obstrução, formando, quase sempre, pequenos canais colaterais múltiplos, em vez de um grande vaso único. Em condições de repouso, o fluxo sanguíneo retorna, em regra, a níveis muito próximos do normal porém, os novos canais, raramente, ficam, suficientemente, amplos para assegurar o fluxo sanguíneo necessário durante a atividade mais exigente. Assim, na obstrução vascular o desenvolvimento de vasos colaterais assegura o controlo local do fluxo sanguíneo agudo e a longo prazo; o primeiro, mediante rápida dilatação metabólica, e o segundo, persistentemente, pela multiplicação de novos vasos durante semanas a meses.

A seguir à isquémia surge vasodilatação resultante da produção de óxido nítrico. A neovascularização no tecido isquémico ocorre com possível encerramento dos shunts arteriovenosos.

Necrose, apoptose, e neovascularização são três processos que ocorrem em vários órgãos durante o fenômeno do condicionamento isquêmico. No estômago, proximalmente desvascularizado – após laqueação da artéria coronária e dos vasos curtos gástricos, e apenas suprido pelas artérias pilórica e gastro-omental –, o efeito do condicionamento isquêmico ajuda a melhorar a vascularização do tubo gástrico, antes da anastomose esofagogástrica, num contexto de esofagogastroplastia após esofagectomia por atipia do esôfago. Num estudo sequencial da recuperação histológica do fundo gástrico, os fenômenos de necrose, apoptose, e neovascularização foram estudados num modelo experimental de isquemia gástrica parcial. A desvascularização gástrica parcial foi realizada por laqueação dos vasos gástricos esquerdos em ratos *Sprague-Dawley*. Os ratos foram divididos em grupos de acordo com seu período de avaliação aos, 1, 3, 6, 10, 15 e 21 dias, tendo sido realizadas, em amostras de tecido, análise histológica e medição da atividade da caspase-3, da fragmentação de ADN e da proliferação de células do endotélio vascular (Ki-67). Após vinte e quatro horas de isquemia gástrica parcial, as taxas de apoptose e necrose foram maiores nos grupos experimentais do que nos controles. A lesão do tecido foi superior no terceiro dia e no sexto dia após isquemia. A partir do décimo dia de isquemia gástrica parcial, a necrose e a apoptose começaram a diminuir e, no décimo quinto dia e no vigésimo primeiro dia não existiam diferenças em relação aos controles. A neovascularização começou entre o primeiro e o terceiro dia, atingindo o pico aos quinze dias após a isquemia, coincidindo com a recuperação histológica completa. Ambas, necrose e apoptose desempenham uma função na lesão do tecido durante os primeiros dias após a isquemia gástrica parcial. Após quinze dias, a evolução de ambas, histologia e neovascularização, sugere que este é o tempo ótimo para realizar a transposição gástrica.²⁷¹

Conexão com o observado no modelo experimental

Como descrevi, a vascularização, extrínseca e intrínseca, do estômago da cobaia é magnificente e os vasos curtos gástricos não são artérias terminais. Assim, no subgrupo animal GE, a laqueação proximal de alguns desses vasos curtos, pela sua reduzida magnitude – calibre e número –, não parece, de por si, passível de causar isquemia do fundo gástrico.

Inflamação aguda e vasodilatação arteriolar²⁷²

A resposta inflamatória – uma interação coordenada dos sistemas nervoso, vascular, endócrino e imunológico – é uma réplica, geral e inespecífica, de defesa do organismo desencadeada por agentes de natureza diversa, sejam eles físicos (radiações, químicos, ácidos), microbiológicos ou traumáticos, que ocorre em tecidos vascularizados. No processo inflamatório esses tecidos são o ambiente no qual participam fatores muito dinâmicos e intervenientes, as células inflamatórias, que comunicam entre si através dos mediadores químicos da inflamação.

O leito vascular, onde se desenvolve o processo inflamatório, abrange a arteríola pré-capilar, a vénula pré-capilar e os capilares. É neste domínio que se desencadeiam as alterações mais importantes do processo inflamatório. Os elementos celulares que nele participam são as células inflamatórias sanguíneas – os polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos, monócitos, linfócitos), as plaquetas que, também, têm uma importante função na inflamação –, e as células dos tecidos que, igualmente, participam no

processo inflamatório (macrófagos, fibroblastos e mastócitos). Estas células (polimorfonucleares, monócitos, mastócitos) possuem grânulos no citoplasma carregados de mediadores inflamatórios.

Após a agressão, a vasodilatação, local e regional, é uma das primeiras alterações vasculares da inflamação, sendo acompanhada de aumento do fluxo sanguíneo (hiperhémia) e da pressão hidrostática no lúmen destes vasos. Este acréscimo da pressão – modificando a interação entre as forças de pressão, hidrostática e osmótica – faz com que haja saída do líquido do interior dos vasos para o interstício. Quando isto acontece, as proteínas e os constituintes intersticiais ficam diluídos, causando diminuição da pressão osmótica, e fazendo com que a reabsorção do líquido intersticial não ocorra de forma eficaz e se acumule no espaço extravascular, originando edema. A passagem de líquido para o interstício é acompanhada pela saída de proteínas, nomeadamente, de fibrina (exsudado) e pela transmigração de numerosas células. Isto subentende que no processo inflamatório ocorre aumento da permeabilidade vascular no leito das vénulas pós-capilares. Por outro lado, a formação de edema em combinação com a libertação de substâncias vasoativas conduz a hemoconcentração que promove a marginação periférica dos leucócitos.

O aumento da permeabilidade é devido, em parte, à contração das células endoteliais, com conseqüente aumento do espaço intercelular. As células contraem-se porque têm fibras no seu citoesqueleto suscetíveis de serem fosforiladas e, assim, constituírem ligações entre os restantes elementos do citoesqueleto, levando à sua contração e à abertura dos espaços entre as células endoteliais vizinhas. É uma resposta rápida e transitória que ocorre, predominantemente, nas vénulas pós-capilares.

Outro mecanismo é o que resulta de agressão direta ao endotélio (queimadura, traumatismo). Estes tipos de agressão condicionam lesões do próprio endotélio, que conduzem ao destacamento do mesmo e causam aumento da permeabilidade vascular. Estas alterações estabelecem-se de forma rápida em arteríolas, vénulas e capilares, dependendo do local onde a agressão se verifica e da sua intensidade porém, como o endotélio é lesado, são mais sustentadas do que o primeiro mecanismo (que era transitório).

As próprias células inflamatórias, nomeadamente, os polimorfonucleares, são capazes de causar lesão endotelial, através do sistema enzimático dos complexos lisossomais e pela libertação do seu conteúdo. Portanto, o endotélio pode sofrer lesão dependente da ativação fagocitária. Este mecanismo é mais retardado e de longa duração; retardado porque subentende a ativação dos leucócitos, que não é imediata, e de longa duração porque há lesão e desprendimento do endotélio.

A estes três principais agentes do aumento da permeabilidade, juntam-se outros dois. Um, relativamente, comum: o da ativação da transcitose (capacidade de transportar do interior do vaso para o interstício líquido plasmático através de vesículas que atravessam o sistema vacuolar da célula) e outro, que se associa à neoformação de vasos. Os neovasos resultam de gomos de células endoteliais que se reorganizam em canais. Nas fases muito precoces da sua constituição a adesão entre as células endoteliais, não sendo perfeita, permite que a permeabilidade vascular seja maior do que a habitual.

No processo inflamatório existem fenômenos ativos que subentendem ativação de mediadores, de recetores e de ligandos. Acontecem vários fenômenos celulares – marginação, rolamento, adesão, transmigração ou diapedese e quimiotaxia. Na marginação, os polimorfonucleares em vez de se deslocarem ao acaso na coluna sanguínea, passam a deslocar-se na porção periférica da mesma. Seguidamente, rolam sob o endotélio, para depois aderirem de forma intensa ao mesmo. A aderência impede que sejam arrastados pelo fluxo sanguíneo e possibilita que cheguem ao espaço intercelular (entre células endoteliais adjacentes) e migrem através desses espaços para o interstício. Por quimiotaxia ocorre deslocamento de uma célula inflamatória desde o local de onde saiu do vaso até ao local onde se encontra o estímulo que desencadeou a inflamação e, onde há produção de mediadores inflamatórios. O deslocamento é condicionado pelo gradiente de concentração da substância que o condiciona.

Para dois destes processos, rolamento e adesão, é muito importante a participação de moléculas de adesão intercelular. Para o rolamento, as mais importantes são as selectinas, e para a adesão, as mais importantes são as integrinas. Estes mecanismos são mediados através de processos que são ativados quimicamente.

Há dois tipos principais de selectinas no endotélio, a selectina E (*endothelium selectine*) e a selectina P (*platelet selectine*). Esta última pode ser produzida pelas plaquetas e pelo endotélio. Nos leucócitos existe a selectina L.²⁷³ As selectinas são moléculas de adesão que têm como ligando um carboidrato sialilado – o *sialil-Lewis X* –, que é o sacárido terminal de muitas glicoproteínas da superfície celular, nomeadamente, na superfície do leucócito. Portanto os leucócitos têm oligossacarídeos de tipo *sialyl-Lewis X* na superfície da membrana celular que são ligandos de moléculas de adesão – as selectinas. Quando há ativação deste processo, no decurso da inflamação, por um lado as selectinas são expostas, em maior quantidade, na superfície do endotélio e os *sialyl-Lewis X* destes sacáridos têm assim capacidade de terem maior número de pontes de ligação sobre o endotélio. É esta ligação entre o *sialyl-Lewis X* e as selectinas E e P, que constitui o substrato bioquímico para o processo de rolamento.

Na adesão há envolvimento de moléculas de outro tipo, as integrinas. Na fase de rolamento as integrinas estão ainda em forma não ativa, mas a participação dos mediadores inflamatórios ativa-as tornando-as mais ávidas dos seus recetores, existentes no endotélio na membrana celular, sendo um dos mais importantes o *ICAM-1* (*intercellular adhesion molecule 1*) – molécula de adesão da superfamília das imunoglobulinas, e que é recetor para as integrinas ativadas, e é por esta ligação entre integrinas ativadas e *ICAM-1* que se desenvolve o processo de adesão firme dos leucócitos à superfície endotelial. Esta fase é seguida pela de transmigração ou diapedese, em que as moléculas de adesão são semelhantes no endotélio e na superfície dos leucócitos, e aqui a molécula mais importante é a *PECAM-1* (*platelet endothelium cell adhesion molecule 1* ou *CD31*), que é expressa na superfície dos leucócitos e também na superfície endotelial, e que permite a transmigração ou diapedese dos leucócitos.

Este processo ativo é mediado por mediadores inflamatórios como a histamina e a trombina que fazem com que algumas moléculas de adesão, nomeadamente, as selectinas, que estão acumuladas nos corpos de *Weibel-Palade* das células endoteliais, sejam expressas na superfície do endotélio. Portanto, na inflamação, é expresso um número maior de selectinas na superfície endotelial, do que na ausência de inflamação.

Outros mediadores inflamatórios como as citocinas, para além de expressão aumentada, levam também à ativação de recetores destas moléculas de adesão. Outros mediadores inflamatórios participam na ativação das integrinas.

Existem dois grandes grupos de mediadores inflamatórios: Os existentes no plasma que, maioritariamente, têm origem hepática e estão na forma inativa, e os de origem celular pré-formados e acumulados em grânulos das células inflamatórias – ex. histamina nos mastócitos, basófilos e plaquetas –; e os sintetizados de novo – ex. citocinas –.

Estes mediadores plasmáticos, que constituem cascatas de ativação sequencial, são fundamentalmente quatro: cascata das cininas, cascata da coagulação, sistema fibrinolítico e cascata do complemento. Na cascata da coagulação, a mais conhecida, o primeiro fator que leva à sua ativação é o fator XII (Hageman). Sempre que ele é ativado leva à ativação da cascata de coagulação cujo produto final é a fibrina. Este sistema de coagulação é contrabalançado por um outro que leva à lise da fibrina: o sistema fibrinolítico, cujo produto final é a plasmina. A plasmina atua sobre a fibrina levando à sua degradação e, ainda, ativa a cascata do complemento. Por sua vez o sistema fibrinolítico tinha sido ativado pelo sistema das cininas. O sistema das cininas leva à produção da bradicinina que é um importante mediador inflamatório com efeitos muito marcados nas alterações vasculares referidas.

Síntese com o observado no modelo experimental

A agressão cirúrgica, subjacente à realização de laqueação proximal dos vasos curtos gástricos e de funduplicatura total, foi susceptível de induzir inflamação aguda no território de intervenção no subgrupo animal GE. Reunindo, no limite, a vasodilatação arteriolar observada parece corresponder a um mecanismo de adaptação locoregional modulado pela ação do sistema nervoso autónomo, com o contributo de algum condicionamento isquémico, no âmbito de um fenómeno inflamatório pós-operatório dilatado.

Vínculo final entre clínica e experimentação animal

Na operação de Nissen-Rossetti a funduplicatura total causa hiperperfusão por aumento do fluxo sanguíneo médio e por aumento da amplitude e da frequência vasomotora. Aparentemente, o aumento de perfusão contribui para proteger a mucosa contra as consequências da sua exposição ao ácido.

Os resultados experimentais encontrados em cobaias, vasodilatação arteriolar em vez de uma expectável diminuição de irrigação do local desvascularizado pela laqueação dos vasos curtos, sendo reveladores da inteligente capacidade biológica de autorregulação, permitem extrapolar que, na prática, a laqueação dos vasos curtos gástricos, quando necessária, não leva a diminuição da vascularização mas a compensação por vasodilatação portanto sem quaisquer riscos, teoricamente conjeturáveis, de desvascularização do fundo gástrico.

A associação experimental entre laqueação dos vasos curtos gástricos e realização de funduplicatura total, que exerce aumento inerente de pressão sobre a JEG, não só não provocou défice da microcirculação do esófago distal ou do estômago proximal como

desencadeou um mecanismo de vasodilatação fúndica que reforça o conceito de segurança da operação de Nissen para tratamento da DRGE.

Perspetiva futura do tratamento da DRGE

A terapêutica médica da DRGE e a cirurgia antirefluxo têm alguns inconvenientes. As principais limitações dos medicamentos supressores de ácido incluem a incapacidade de evitar a regurgitação do refluxo, não ácido ou fracamente ácido, e a necessidade de terapêutica continuada, crónica, a que se adiciona o custo financeiro, a incomodidade, os potenciais efeitos colaterais e a necessidade de modificação da dieta e do estilo de vida. Além disso, os fármacos correntes não interferem no principal contribuidor fisiológico da DRGE, o EEI, mecanicamente, danificado.

A cirurgia antirefluxo visa restaurar, permanentemente, o funcionamento do EEI mas, comporta algum potencial de morbidade pós-operatória, custo financeiro, risco inerente à anestesia geral, possíveis efeitos colaterais de curto e longo prazo e alguma inconsistência no controlo do refluxo, entre centros de referência. Além disso, a seleção adequada do doente é crítica e a técnica operatória não estando bem padronizada, afeta os resultados, adversamente, em particular se efetuada por cirurgiões inexperientes.

Por estas razões, continua o interesse na investigação e na descoberta de novos métodos de restabelecer a competência do EEI – por ação médica, por cirurgia minimamente invasiva, ou por técnicas endoscópicas –, que sejam facilmente aplicáveis e altamente reprodutíveis. Medicamentos, como o *baclofeno*, um agonista dos recetores do ácido γ -aminobutírico, têm sido utilizados para diminuir os relaxamentos transitórios do EEI.²⁷⁴ Novos fármacos, atualmente em ensaio, chegarão à prática clínica. Algumas terapêuticas endoluminais, incluindo agentes injetados por via endoscópica para aumento do volume do EEI, plastia valvular por sutura endoluminal, aplicação de radiofrequência no EEI foram sendo abandonadas.

Apesar destes percalços, continuam a surgir novos dispositivos que oferecerem melhoria potencial sobre tecnologias precedentes. Por exemplo, tem sido testada em modelos animais, e num limitado número de doentes humanos com DRGE, a funduplicatura endoscópica transoral – *EsophyX*, *EndoGastric Solutions, Inc.*, *Redmond, Washington*.

PARTE V - CONCLUSÕES

Capítulo 15 – Conclusões

DRGE e cirurgia antirefluxo

O diagnóstico de DRGE é possível desde que exista, pelo menos, uma das seguintes condições: lesão da mucosa esofágica na endoscopia, em doente com sintomas típicos; histopatologia de esófago de Barrett; estenose péptica, quando excluída malignidade; e pHmetria positiva.

A cirurgia antirefluxo visa restabelecer a competência do esfíncter esofágico inferior, preservando a capacidade de deglutição e de eructação. Ao proporcionar cura anatômica e fisiológica, a fundoplicatura total impede as consequências adversas da continuada exposição do esófago ao refluxo, ácido e biliar.

A fundoplicatura de Nissen, por laparoscopia, é considerada a operação antirefluxo mais adequada, por ser a que melhor replica a fisiologia normal da válvula gastresofágica na maioria dos doentes com sintomas típicos. Os critérios técnicos da fundoplicatura de Nissen são o encerramento seguro dos pilares do diafragma e a criação de fundoplicatura completa (360 graus), curta (menor que dois centímetros), lassa e sem tensão. Neste desiderando, a laqueação proximal dos vasos curtos gástricos é decisiva. No terceiro capítulo expus os resultados obtidos em 100 doentes, com DRGE, que tratei por laparoscopia, realizando cruroplastia, fundoplicatura total e laqueação proximal dos vasos curtos gástricos.

A fundoplicatura celioscópica, é preferível à alternativa laparotômica, por estar associada com melhores resultados imediatos (menor tempo de internamento, regresso mais rápido à atividade, menor morbidade) e, por, a longo prazo, apresentar índice de recorrência comparável. A cirurgia antirefluxo depende de uma curva de aprendizagem, que influencia os resultados obtidos. Deste modo, os cirurgiões, sem experiência em cirurgia laparoscópica avançada, e de fundoplicatura em particular, devem ser supervisionados, no seu início com o procedimento, para minimizar a morbidade e melhorar os resultados. A cirurgia de reintervenção deve ser realizada, em centros com elevado volume casuístico, por cirurgiões experientes.

O recurso a calibrador do esófago durante a confeição da fundoplicatura é aconselhável, por se conotar com menor incidência de disfagia pós-operatória, porém, deve sopesar-se o risco (pequeno) de lesão esofágica. O calibrador “*French 56*” mostrou-se eficaz, mas a evidência é limitada. Na realização de uma fundoplicatura há indicação, formal, para aproximação dos pilares do diafragma, sempre que a abertura hiatal for grande. Por vezes, o reforço protésico da cruroplastia será benéfico, para diminuir a incidência de hérnia da fundoplicatura. O encerramento anterior dos pilares parece apresentar menor disfagia pós-operatória no entanto, é necessária evidência adicional. O elevado custo da cirurgia antirefluxo robótica, comparativamente, à cirurgia laparoscópica convencional e a equivalência dos resultados, a curto prazo, fazem com que, de momento, não constitua primeira opção.

É clara a associação entre DRGE e obesidade mórbida, sendo a prevalência da doença, diretamente, proporcional ao índice de massa corporal.^{275, 276} No obeso mórbido (IMC > 30 kg/m²), a eficácia, a longo prazo, da fundoplicatura tem sido questionada, por a taxa de falência ser mais elevada, relativamente, ao indivíduo de peso normal.^{277, 278} Na

DRGE do obeso mórbido, o “*bypass*” gástrico Y-Roux, por laparoscopia, é a opção cirúrgica mais eficaz e vantajosa,^{279,280} porque não só trata, eficazmente, a DRGE como proporciona o benefício da perda ponderal e da profilaxia das comorbidades.^{281, 282}

Projeto de experimentação

Para analisar as consequências da laqueação dos vasos curtos e da funduplicatura total sobre a microcirculação do fundo gástrico, desenvolvi um Projeto de experimentação em cobaias, estruturado segundo os princípios dos 3R – *Replacement, Reduction, Refinement* – da técnica de experimentação humana de Russell e Burch (1959), para avaliação da angiormorfologia microvascular do estômago proximal, oito dias após realização prévia daqueles dois gestos da operação de Nissen.

O Projeto foi efetuado no Centro de Investigação do Departamento de Anatomia da FCM-UNL. Para a sua realização obtive autorização da Comissão Científica e Pedagógica da FCM-UNL, requeri a acreditação como investigador à Direção Geral de Veterinária e, por recorrer à utilização de animais, submeti-o à Comissão de Ética da FCM-UNL, que o aprovou por unanimidade.

Os animais do Projeto, cujo número total estimei em sessenta e oito, foram subdivididos num grupo de ensaio (GE), onde realizei a operação de Nissen, e num grupo de controlo (GC), onde apenas procedi a laparotomia. No decurso da avaliação periódica dos resultados, procurei elementos orientadores no sentido da redução do número dos animais a utilizar. O número final de cobaias usadas no Projeto foi de cinquenta e quatro. O Projeto teve duas componentes interdependentes: uma, de clínica veterinária e outra, de utilização de técnicas de estudo angiormorfológico, em cuja concretização elaborei e utilizei protocolos de atuação. Na clínica veterinária, defini e apliquei um protocolo de anestesia, um de cirurgia e outro de eutanásia. A utilização das técnicas de estudo angiormorfológico permitiu-me descrever a vascularização arterial macroscópica por lupa estereoscópica, a microangioarquitetura por microscopia eletrónica de varrimento de moldes de corrosão vascular e a histologia da parede do estômago da cobaia por microscopia ótica.

Por microscopia eletrónica de varrimento de moldes de corrosão vascular, descrevi os *Efeitos da Laqueação Proximal dos Vasos Curtos e da Funduplicatura Total sobre a Microcirculação do Fundo Gástrico* neste *Estudo Microvascular em Cobaias*.

Extrapolação dos resultados experimentais

Nas cobaias do GE as arteríolas do plexo mucoso e do plexo submucoso do cárdia, do fundo e da região dos vasos curtos dilataram após a operação, sendo tais dilatações superiores a 50% do calibre vascular prévio; na região dos vasos curtos gástricos também houve dilatação embora, mais pequena; e que os vasos retos do fundo gástrico mostraram dilatação da base. A análise estatística (ANOVA) efetuada pelo Gabinete de Análise Epidemiológica e Estatística do Centro de Investigação do CHLC, EPE concluiu que tais aumentos foram, estatisticamente, significativos.

Infiro que a laqueação dos vasos curtos gástricos possa, igualmente, estimular a vasodilatação arteriolar no ser humano, pela analogia microvascular, que estabeleci, entre as duas espécies. Tal vasodilatação, transitória ou definitiva, cuja gênese ultrapassa a pesquisa angiomorfológica, será um mecanismo de adaptação microvascular que visará compensar as modificações anatómicas introduzidas com relevo para a interrupção vascular.

A funduplicatura total causa hiperperfusão por aumento do fluxo sanguíneo médio e por aumento da amplitude e da frequência vasomotora na operação de Nissen-Rossetti. A associação experimental da laqueação dos vasos curtos gástricos com a realização de funduplicatura total não só não provocou déficit da microcirculação do esófago distal ou do estômago proximal como desencadeou um mecanismo de vasodilatação fúndica compensadora que, fortalecendo o conceito de segurança da operação de Nissen para tratamento da DRGE, parece em harmonia com a hiperperfusão secundária à realização desta intervenção.

Contribuições singulares

Realço quatro contributos expressivos que alcancei durante a realização do Projeto. Os dois primeiros são de clínica veterinária e os restantes correspondem à utilização das técnicas de estudo angiomorfológico.

O primeiro consistiu no aperfeiçoamento do protocolo de anestesia geral, através da introdução da pré-anestesia, administrada trinta minutos antes da anestesia geral, constituída por um sedativo, um anticolinérgico e um analgésico, que tornou regular a sobrevivência pós-operatória das cobaias. A seguir, a descrição do óbito de uma cobaia, às 8 horas de operação de Nissen, por necrose do fundo gástrico, secundária à aplicação de betadine solução dérmica a 10%, motivada por contaminação acidental intraoperatória. Não tendo encontrado referência análoga na pesquisa bibliográfica, procedi à sua descrição no artigo – *Acute morphological changes of a guinea pig stomach after contact with povidone-iodine: a case report* – Guedes da Silva JL, Barata PC, Casal D, O'Neill A, Alves CP, O'Neill JG, que foi publicado no *Journal of Morphological Sciences*, 2013, vol. 30, nº1, p.1-4 –. Em terceiro, o recurso à colocação intragástrica de um ou dois pequenos globos de vidro transparente (pequena lâmpada a que retirei o casquilho e o filamento), através de pequena gastrotomia no antro pré-pilórico, para suporte tridimensional das paredes do estômago (órgão oco, difícil de observar) durante a dissecação e a diafanização, que me tornou possível a análise macroscópica e à lupa estereoscópica da angioarquitetura de cada região gástrica. Por último, a demonstração por estudo histológico do estômago da cobaia, em conjunto com o Dr. Mário de Oliveira, Diretor do Serviço de Anatomia Patológica do CHLC, EPE, de que a mucosa gástrica da *Cavia Porcellus* é sempre glandular, não se observando setores não glandulares, nem transição glandular/não glandular da mesma. A iniciativa para esta pesquisa adicional foi determinada pelo aspeto uniforme, em favo, da morfologia do plexo mucoso gástrico da cobaia, que observara em todas as regiões do estômago por microscopia eletrónica de varrimento, consentâneo com uma mucosa glandular única, e discordante com a existência de dois tipos de mucosa, glandular e não glandular, referida em alguma literatura.

PARTE VI – REFERÊNCIAS

Capítulo 15 – Bibliografia

- ¹ Kahrilas P J, Shaheen N J, Vaezi M F, Hiltz S W, Black E, Modlin I M, Johnson S P, Allen J, Brill J V (2008) American Gastroenterological Association Medical Position Statement on the management of gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 135:1383-1391, 1391 e1381-1385.
- ² Corely DA, Kubo A – Body mass index and gastroesophageal reflux disease: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2006;108:2619-2628.
- ³ Cezard JP. Tratamento da Doença de Refluxo Gastroesofágico nas crianças. – *Digestion* 2004; 69 (suppl 1): 3-8.
- ⁴ Pali A, Hungin S, Raghunath A. – Tratamento da Doença de Refluxo Gastroesofágico no doente idoso. *Digestion* 2004; 69 (suppl 1): 17-24.
- ⁵ Wetscher G J, Redmont, E.J., Vititi, L.M.H. (1993) – Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease. In *Gastroesophageal Reflux Disease*, R.A. Hinder, ed. (Austin, TX: R. G. Landes Company), pp. 7-29.
- ⁶ Little A G (1992) – Mechanisms of action of antireflux surgery: theory and fact. *World J Surg* 16:320-325.
- ⁷ Ireland A C, Holloway R H, Toouli J, Dent J (1993) – Mechanisms underlying the antireflux action of fundoplication. *Gut* 34:303-308.
- ⁸ Tutuiian R, Katz PO, Castell DO. – Nocturnal acid breakthrough: pH, drugs and bugs. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16:441.
- ⁹ Hatlebakk JG, Katz PO, Kuo B, et al. – Nocturnal gastric acidity and acid breakthrough on different regimens of omeprazol 40 mg daily. *Aliment Pharmacol Ther* 1998;12:1235.
- ¹⁰ Frazzoni M, Micheli E, Savarino V – Different patterns of oesophageal acid exposure distinguish complicated reflux disease from either reflux oesophagitis or non-erosive reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18:1091.
- ¹¹ Eliska O – Phreno-oesophageal membrane and its role in the development of hiatal hernia. *Acta anat.* 1973; 86:137-150.
- ¹² Duranceau A, Jamieson GG – Hiatal Hernia and Gastroesophageal Reflux. In *Textbook of Surgery*. WB Saunders Company, 1997: pg 767-784.
- ¹³ Lin S, Brasseur JG, Pouderoux P, Kahrilas PK – The phrenic ampulla: distal esophagus or potential hiatal hernia? *Am J Physiol* 1995;268:G320-G327.
- ¹⁴ Delattre JF, Palot JP, Ducasse A, Flament JB, Hureau J. – The crura of the diaphragm and diaphragmatic passage. *Anat Clin* 1985;7:271-83.
- ¹⁵ Dent J, Dodds WJ, Sekiguchi T, Hogan WJ, Arndorfer RC. – Interdigestive phasic contractions of the human lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* 1983;84:453-60.
- ¹⁶ Klein WA, Parkman HP, Dempsey DT, Fisher RS. Sphincterlike thora-coabdominal high pressure zone after esophagogastrectomy. *Gastroenterology* 1993;105:1362-9.
- ¹⁷ Darian GB, DLMarco AF, Kelsen SG, Supinski GS, Gottfried SB. Ef-feets of progressive hypoxia on parasternal, costal, and crural diaphragm ac-tivation. *J Appl Physiol* 1989;66:2579-84.
- ¹⁸ Mittal RK, Balaban DH – The Esophagogastric Junction. *The New England Journal of Medicine* 1997;March27:924-932.
- ¹⁹ Katzka DA, Sidhu M, Castell DO. – Hypertensive lower esophageal sphincter pressures and gastroesophageal reflux: an apparent paradox that is not unusual. *Am J Gastroenterol* 1995;90:280-4.
- ²⁰ Mittal RK, Holloway RH, - Penagini R, Blackshaw LA, Dent J. Transient lower esophageal sphincter relaxation. *Gastroenterology* 1995;109:601-10.
- ²¹ Miller LS, Liu J-B, Klenn PJ, et al. – Endoluminal ultrasonography of the distal esophagus in systemic sclerosis. *Gastroenterology* 1993;105: 31-9.
- ²² Mittal RK, Lange RC, McCallum RW. Identification and mechanism of delayed esophageal acid clearance in subjects with hiatal hemia. *Gastroenterology* 1987;92:130-5.
- ²³ Anderson JM - The Role of Intercellular Junctions in Esophageal Barrier Function: GERD and Conversion from Stratified Squamous to Columnar Epitelium. *In GERD: The Last Word? – Yale University School of Medicine. Consensus Statement, 1997:November 15-16.*
- ²⁴ Hamilton SR - Epithelial Lineage and Transformation. *In GERD: The Last Word? – Yale University School of Medicine. Consensus Statement, 1997:November 15-16.*
- ²⁵ Goyal RK, Kjellin A – Physiological Basis of Esophageal Motility. *In GERD: The Last Word? – Yale University School of Medicine. Consensus Statement, 1997:November 15-16.*
- ²⁶ McCallum R – Esophageal Motor Activity in Reflux Esophagitis. *In GERD: The Last Word? – Yale University School of Medicine. Consensus Statement, 1997:November 15-16.*

- ²⁷ McCarthy DM – Acid and the Esophagus. *In GERD: The Last Word? – Yale University School of Medicine. Consensus Statement, 1997:November 15-16.*
- ²⁸ Hirshowitz BI – Pepsin and the Esophagus. *In GERD: The Last Word? – Yale University School of Medicine. Consensus Statement, 1997:November 15-16.*
- ²⁹ Klauser AG, Schindlbeck NE, Muller-Lissner SA – Symptoms in gastro-oesophageal reflux disease. *Lancet. 1990; 335:205-208.*
- ³⁰ Gamito E – Doença do Refluxo Gastroesofágico. *Epidemiologia, Clínica e História Natural NGHD: 2003:21-30.*
- ³¹ Dent J, Brun J, Fendrick AM, Fennerty MB, Janssens J, Kahrilas PJ, Lauritsen Reynolds JC, Shaw M, Talley NJ – An evidence based appraisal of reflux disease management – the Genval Workshop report. *GUT. 1999; 44 (suppl 2) S1-S6.*
- ³² Curado A – Doença do Refluxo Gastroesofágico NGHD. *Diagnóstico: 31-51.*
- ³³ Jamieson GG, Duranceau AC: The investigation and classification of reflux disease, in Jamieson GC (ed): *Surgery of the Oesophagus.* New York, Churchill Livingstone Inc., 1988, p 201.
- ³⁴ Evrard S – Complications évolutives du reflux gastro-oesophagien. *Conférence de Consensus Franco-Belge. Gastroenterol Clin Biol 1999; 23: S221-28.*
- ³⁵ Beija B – Doença do Refluxo Gastroesofágico NGHD. *Complicações: 53-57.*
- ³⁶ Kim SL, Hunter JG, Wo JM, Davis LP, Waring JP – NSAIDs, aspirin and esophageal strictures: are over-the-counter medications harmful to the esophagus? *J Clin Gastroenterol 1999; 29 (1): 32-4.*
- ³⁷ Goyal RK, Glancy JJ, Spiro HM – Lower oesophagus ring. *N Engl J Med 1970; 282: 1298-305*
- ³⁸ Zeitoun P, Fléjou F – Complications évolutives du reflux gastro-oesophagien et endobranchyoesophage. *Conférence de Consensus Franco-Belge. Gastroenterol Clin Biol 1999; 23: S50-60.*
- ³⁹ Zimmermann J, Shohat V, Tsvang E, Arnon R, Safadi R, Wengrower D – Esophagitis is a major cause of upper gastrointestinal hemorrhage in the elderly. *Scand J Gastroenterol 1997; 32: 906-9*
- ⁴⁰ Plaisier PW, van Buuren HR, Bruining HA – Upper gastrointestinal endoscopy at four intensive care units in one hospital: Frequency and indication. *Eur J Gastroenterol Hep 1998; 10: 997-1000.*
- ⁴¹ Da Costa N, Cadiot G, Merle C, Jolly D, Bouché O, Thiéfin G, Zeitoun P – Bleeding reflux esophagitis: A Prospective 1 Year Study in a University Hospital. *Am J Gastroenterol 2001; 96: 47-51.*
- ⁴² Schuchert MJ, Luketich JD – *Advances in Surgery, vol 37, 2004*
- ⁴³ Costantini M, Crookes PF, Bremner RM, *et al* – The value of physiologic assessment of foregut symptoms in a surgical practice. *Surgery 1993;114:780.*
- ⁴⁴ Huang Q – Definition of the Esophagogastric Junction. *A Critical Mini Review. Arch Pathol Lab Med. 2011;135:384-389.*
- ⁴⁵ American Society for Gastrointestinal Endoscopy. The role of endoscopy in the management of GERD. *Gastrointest Endosc 1999; 49: 834-835.*
- ⁴⁶ Duranceau A, Jamieson GG – Hiatal Hernia and Gastroesophageal Reflux, in Sabiston DC (ed) *Textbook of Surgery.* Philadelphia, WB Saunders, 1997: 767-784
- ⁴⁷ Lundell L R, Dent J, Bennett J R, Blum A L, Armstrong D, Galmiche J P, Johnson F, Hongo M, Richter JE, Spechler S J, Tytgat G N, Wallin L (1999) Endoscopic assessment of esophagitis: clinical and functional correlates and further validation of the Los Angeles classification. *Gut 45:172-180.*
- ⁴⁸ Tam W C, Holloway R H, Dent J, Rigda R, Schoeman M N (2004) Impact of endoscopic suturing of the gastroesophageal junction on lower esophageal sphincter function and gastroesophageal reflux in patients with reflux disease. *Am J Gastroenterol 99:195-202.*
- ⁴⁹ Armstrong D, Bennett J R, Blum A L, Dent J, De Dombal F T, Galmiche J P, Lundell L, Margulies M, Richter J E, Spechler S J, Tytgat G N, Wallin L (1996). The endoscopic assessment of esophagitis: a progress report on observer agreement. *Gastroenterology 111:85-92.*
- ⁵⁰ Hassall E (1993) Barrett's esophagus: congenital or acquired? *Am J Gastroenterol 88:819-824.*
- ⁵¹ Savary M, Miller G – *L'oesophage: Manuel et atlas d' endoscopie.* Soleure, Switzerland: Editions Gassmann, 1977 (English edition 1978).
- ⁵² Miller G, Savary M, Monnier P – *Norwendige Diagnostik: Endoskopie.* In: Blun AL, Siewert JR. *Reflux-therapie.* Berlin: Sringer-Verlag, 1981;336-354.
- ⁵³ Armstrong D, Bennett JR, Blum A, Dent J, de Dombalt T, Galmiche JP *et al* – The endoscopic assessment of esophagitis: a progress report on observer agreement. *Gastroenterology 1996;111:85-92.*
- ⁵⁴ Lundell LR, Bennett JR, Blum A, Armstrong D, Galmiche JP *et al* – Endoscopic assessment of esophagitis: clinical and functional correlates and further validation of the Los Angeles classification. *Gut 1999;45:172-180-*

- ⁵⁵ Jamieson J R, Stein H J, DeMeester T R, Bonavina L, Schwizer W, Hinder R A, Albertucci M (1992). Ambulatory 24-h esophageal pH monitoring: normal values, optimal thresholds, specificity, sensitivity, and reproducibility. *Am J Gastroenterol* 87:1102-1111.
- ⁵⁶ American Gastroenterology Association – Medical position statement: guidelines on the use of oesophageal pH recording. *Gastroenterology* 1996; 110: 1981-1996.
- ⁵⁷ Maldonado A, Diederich L, Castell DO, Gideon RM, Katz PO – Laryngopharyngeal reflux identified using a new catheter design: defining normal values and excluding artifacts. *Laryngoscope* 2003; 113(2): 349-55.
- ⁵⁸ Carvalhinhos A – Refluxo Gastroesofágico sintomático (RGES). In Pinto Correia J *Gastrenterologia*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 1985, p 58.
- ⁵⁹ Herwaarden MA, Smout A – Diagnosis of reflux disease. *Baillière's Clinical Gastroenterology* 2000; 14-5: 759-774.
- ⁶⁰ Vaezi MF, Singh S, Richter JE – Role of acid and duodenogastric reflux in oesophageal mucosal injury: a review of animal and human studies. *Gastroenterology* 1995 Jun; 108(6): 1897-907.
- ⁶¹ Vaezi MF; Richter JE – Contribution of acid and duodenogastric reflux to oesophageal mucosal injury and symptoms in partial gastrectomy patients. *Gut* 1997 Sep; 41(3): 297-302.
- ⁶² Silny J – Intraluminal multiple electric impedance procedure for measurement of gastrointestinal motility. *J Gastrointest Motil* 1991; 3: 151-162
- ⁶³ Fass J Silny J, Braun J, Hendrichs U, Dreuw B, Schumpelick V – Measuring esophageal motility with a new intraluminal impedance device. First clinical results in reflux patients. *Scand J Gastroenterol* 1994 Aug; 29(8): 693-702.
- ⁶⁴ Sifrim D, Holloway R, Silny J, Xin Z, Tack J, Lerut A – Acid, non-acid, and gas reflux in patients with gastroesophageal reflux disease during ambulatory 24-hour pH-impedance recordings. *Gastroenterology* 2001; 120(7): 1588-98.
- ⁶⁵ Castell DO, Vela M – Combined multichannel intraluminal impedance and pHmetry: an evolving technique to measure type and proximal extent of gastroesophageal reflux. *Am J Med* 2001; 111 Suppl 8A: 157S-159S.
- ⁶⁶ Schenk BE, Kuipers EJ, Klinkenberg-Knol EC, Festen HP, Jansen EH – Omeprazol as a diagnostic tool in gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 1997; 92(11): 1997-2000.
- ⁶⁷ Peters JH, Heimbucher J, Kauer WK, Incarbone R, Bremner CG, DeMeester TR. Clinical and physiologic comparison of laparoscopic and open Nissen fundoplication. *J Am Coll Surg* 1995;180:385-93.
- ⁶⁸ Bianchi-Porro G, Hollander D – In “Treatment of digestive disease with sucralfate”, perspectives in digestive disease, 6, Raven Press, New York, 1989.
- ⁶⁹ Brogden RN, Heel RC, Speigh TM – Sucralfate. A review of its pharmacologic properties and therapeutic use in peptic ulcer disease. *Drugs* 1984; 27: 194.
- ⁷⁰ Osswald W, Guimarães S – In *Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas*, 4ª Edição, Porto Editora. 2001; 46-60.
- ⁷¹ Katz PO, Tutuian R – Histamine receptor antagonists, proton pump inhibitors and their combination in the treatment of gastroesophageal reflux disease. *Clinical gastroenterology* 2001; 15:3 371-384.
- ⁷² Richter JE – Indications for Surgical Referral for Hiatal and Gastroesophageal Reflux: A Gastroenterologist's Viewpoint. In *Esophageal Surgery / F Griffith Pearson et al - 2nd Ed 2002*. Chapter 12: 245-249
- ⁷³ Freston JW, Rose PA, Heller CA – Safety profile of lansoprazole: the US clinical trial experience. *Drug Saf* 1999; 20(2): 195-205
- ⁷⁴ Hoppo T, Carr SR, Jobe BA – Gastroesophageal Reflux Disease and Hiatal Hernia (Including Paraesophageal) in *Maingot Abdominal Operations*, 12th ed. / editors Michael J. Zinner, Stanley W Ashley 2013: 319-349.
- ⁷⁵ Jobe BA, O'Rourke RW, McMahon BP *et al* – Transoral endoscopic fundoplication in the treatment of gastroesophageal reflux disease: the anatomic and physiologic basis for reconstruction of the esophagogastric junction using a novel device. *Ann Surg* 2008;248:69-76.
- ⁷⁶ Marks WJ – *Gastroesophageal Reflux Disease (GERD, Acid Reflux)*. MedicineNet, Inc. 1996-2004.
- ⁷⁷ Nissen R – A simple operation for control of reflux oesophagitis. *Schweiz Med Wochenschr*. 1956 May 18;86(suppl 20):590-592.
- ⁷⁸ Nissen R, Rossetti M – Fundoplication and gastropexy in the surgical treatment of cardia insufficiency and hiatal hernia. Indications, technique and results. *Ann Chir*. 1962;16:825-836.
- ⁷⁹ Dor J, Humbert P, Paoli JM, Miorclerc M, Aubert J – Treatment of reflux by the so-called modified Heller-Nissen technic. *Presse Med*. 1967 Nov 25;75(50):2563-2565.

- ⁸⁰ Toupet A – Technic of esophago-gastroplasty with phrenogastropey used in radical treatment of hiatal hernias as a supplement to Heller’s operation in cardiospasms. *Mem Acad Chir (Paris)*. 1963 Mar 20-27;89:384-389.
- ⁸¹ Donahue PE, Samelson S, Nyhus LM, Bombeck CT – The floppy Nissen fundoplication. Effective long-term control of pathologic reflux. *Arch Surg*. 1985; 120(6):663-668.
- ⁸² DeMeester TR, Bonavina L, Albertucci M – Nissen fundoplication for gastroesophageal reflux disease. Evaluation of primary repair in 100 consecutive patients. *Ann Surg*. 1986 Jul;204(1):9-20.
- ⁸³ Dallemagne B, Weerts, Jehaes C, Markiewicz S, Lombard R – Laparoscopic Nissen fundoplication: preliminary report. *Surg Laparosc Endosc*. 1991 Sep;1(3):138-143.
- ⁸⁴ Peters MJ, Mukhtar A, Yunus RM *et al* – Meta-analysis of randomized clinical trials comparing open and laparoscopic anti-reflux surgery. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(6):1548-1561; quiz 1547, 1562.
- ⁸⁵ Lundell L – *Clinician’s Guide to the Management of Symptomatic Gastro-oesophageal Reflux Disease*. Science Press, 1998.
- ⁸⁶ Soper NJ – *Laparoscopic Management of Hiatal Hernia and Gastroesophageal Reflux*. CPS, Vol 36, Number 10, October 1999
- ⁸⁷ Yau P, Watson D I, Devitt P G, Game P A, Jamieson G G (2000) Laparoscopic antireflux surgery in the treatment of gastroesophageal reflux in patients with Barrett esophagus. *Arch Surg* 135:801-805.
- ⁸⁸ Chang E Y, Morris C D, Seltman A K, O’Rourke R W, Chan B K, Hunter J G, Jobe B A (2007) The effect of antireflux surgery on esophageal carcinogenesis in patients with barrett esophagus: a systematic review. *Ann Surg* 246:11-21.
- ⁸⁹ Lille AG – Mechanisms of action of antireflux surgery: theory and fact. *World J Surg* 1992; 16: 320-5.
- ⁹⁰ Richardson WS, Hunter JG – The “floppy” Nissen fundoplication is a completely competent antireflux valve. *Surg Endosc* 1999; 13: 142-5.
- ⁹¹ Mckerman JB, Champion JK – Minimally invasive antireflux surgery. *Am J Surg* 1998, 175: 271-6.
- ⁹² Rossetti M, Hell K – Fundoplication for the treatment of gastroesophageal reflux in hiatal hernia. *World J Surg* 1977; 1: 439-44.
- ⁹³ DeMeester TR, Bonavina L, Albertucci M – Nissen fundoplication for gastroesophageal reflux disease: evaluation of primary repair in 100 consecutive patients. *Ann Surg*. 1986; 204: 9-20.
- ⁹⁴ Peters M J, Mukhtar A, Yunus R M, Khan S, Pappalardo J, Memon B, Memon M A (2009) Meta-analysis of randomized clinical trials comparing open and laparoscopic anti-reflux surgery. *Am J Gastroenterol* 104:1548-1561; quiz 1547, 1562.
- ⁹⁵ Catarci M, Gentileschi P, Papi C, Carrara A, Marrese R, Gaspari A L, Grassi G B (2004) Evidence-based appraisal of antireflux fundoplication. *Ann Surg* 239:325-337.
- ⁹⁶ Sietses C, Wiezer M J, Eijssbouts Q A, van Leeuwen P A, Beelen R H, Meijer S, Cuesta M A (2000) The influence of laparoscopic surgery on postoperative polymorphonuclear leukocyte function. *Surg Endosc* 14:812-816.
- ⁹⁷ Attwood S E, Lundell L, Ell C, Galmiche J P, Hatlebakk J, Fiocca R, Lind T, Eklund S, Junghard O (2008) Standardization of surgical technique in antireflux surgery: the LOTUS Trial experience. *World J Surg* 32:995-998.
- ⁹⁸ Watson D I, Baigrie R J, Jamieson G G (1996) A learning curve for laparoscopic fundoplication. Definable, avoidable, or a waste of time? *Ann Surg* 224:198-203.
- ⁹⁹ Funch-Jensen P, Bendixen A, Iversen M G, Kehlet H (2008) Complications and frequency of redo antireflux surgery in Denmark: a nationwide study, 1997-2005. *Surg Endosc* 22:627-630.
- ¹⁰⁰ Cai W, Watson D I, Lally C J, Devitt P G, Game P A, Jamieson G G (2008) Ten-year clinical outcome of a prospective randomized clinical trial of laparoscopic Nissen versus anterior 180(degrees) partial fundoplication. *Br J Surg* 95:1501-1505.
- ¹⁰¹ Spence G M, Watson D I, Jamieson G G, Lally C J, Devitt P G (2006) Single center prospective randomized trial of laparoscopic Nissen versus anterior 90 degrees fundoplication. *J Gastrointest Surg* 10:698-705.
- ¹⁰² Engstrom C, Lonroth H, Mardani J, Lundell L (2007) An anterior or posterior approach to partial fundoplication? Long-term results of a randomized trial. *World J Surg* 31:1221-1225; discussion 1226-1227.
- ¹⁰³ Mickevicius A, Endzinas Z, Kiudelis M, Jonaitis L, Kupcinskas L, Maleckas A, Pundzius J (2008) Influence of wrap length on the effectiveness of Nissen and Toupet fundoplication: a prospective randomized study. *Surg Endosc* 22:2269-2276.
- ¹⁰⁴ Jobe B A, Wallace J, Hansen P D, Swanstrom L L (1997) Evaluation of laparoscopic Toupet fundoplication as a primary repair for all patients with medically resistant gastroesophageal reflux. *Surg Endosc* 11:1080-1083.

- ¹⁰⁵ Patti M G, Robinson T, Galvani C, Gorodner M V, Fisichella P M, Way L W (2004) Total fundoplication is superior to partial fundoplication even when esophageal peristalsis is weak. *J Am Coll Surg* 198:863-869; discussion 869-870.
- ¹⁰⁶ Chrysos E, Tzortzinis A, Tsiaoussis J, Athanasakis H, Vassilakis J, Xynos E (2001) Prospective randomized trial comparing Nissen to Nissen-Rossetti technique for laparoscopic fundoplication. *Am J Surg* 182:215-221.
- ¹⁰⁷ Wu J S, Dunnegan D L, Luttmann D R, Soper N J (1996) The influence of surgical technique on clinical outcome of laparoscopic Nissen fundoplication. *Surg Endosc* 10:1164-1169; discussion 1169-1170.
- ¹⁰⁸ Fibbe C, Layer P, Keller J, Strate U, Emmermann A, Zornig C (2001) Esophageal motility in reflux disease before and after fundoplication: a prospective, randomized, clinical, and manometric study. *Gastroenterology* 121:5-14.
- ¹⁰⁹ Watson D I, Jamieson G G, Devitt P G, Kennedy J A, Ellis T, Ackroyd R, Laffullarde T, Game P A (2001) A prospective randomized trial of laparoscopic Nissen fundoplication with anterior vs posterior hiatal repair. *Arch Surg* 136:745-751.
- ¹¹⁰ Gotley D C, Smithers B M, Rhodes M, Menzies B, Branicki F J, Nathanson L (1996) Laparoscopic Nissen fundoplication-200 consecutive cases. *Gut* 38:487-491.
- ¹¹¹ Lefebvre J C, Belva P, Takieddine M, Vaneukem P (1998) Laparoscopic Toupet fundoplication: prospective study of 100 cases. Results at one year and literature review. *Acta Chir Belg* 98:1-4.
- ¹¹² Granderath F A, Schweiger U M, Kamolz T, Asche K U, Pointner R (2005) Laparoscopic Nissen fundoplication with prosthetic hiatal closure reduces postoperative intrathoracic wrap herniation: preliminary results of a prospective randomized functional and clinical study. *Arch Surg* 140:40-48.
- ¹¹³ Patterson E J, Herron D M, Hansen P D, Ramzi N, Standage B A, Swanstrom L L (2000) Effect of an esophageal bougie on the incidence of dysphagia following Nissen fundoplication: a prospective, blinded, randomized clinical trial. *Arch Surg* 135:1055-1061; discussion 1061-1052.
- ¹¹⁴ Pizza F, Rossetti G, Limongelli P, Del Genio G, Maffettone V, Napolitano V, Bruscianno L, Russo G, Tolone S, Di Martino M, Del Genio A (2007) Influence of age on outcome of total laparoscopic fundoplication for gastroesophageal reflux disease. *World J Gastroenterol* 13:740-747.
- ¹¹⁵ Bresadola V, Dado G, Favero A, Terrosu G, Barriga Sainz M, Bresadola F (2006) Surgical therapy for patients with extraesophageal symptoms of gastroesophageal reflux disease. *Minerva Chir* 61:9-15.
- ¹¹⁶ Patti M G, Perretta S, Fisichella P M, D'Avanzo A, Galvani C, Gorodner V, Way L W (2003) Laparoscopic antireflux surgery: preoperative lower esophageal sphincter pressure does not affect outcome. *Surg Endosc* 17:386-389.
- ¹¹⁷ Cowgill S M, Al-Saadi S, Villadolid D, Arnaoutakis D, Molloy D, Rosemurgy A S (2007) Upright, supine, or bipositional reflux: patterns of reflux do not affect outcome after laparoscopic Nissen fundoplication. *Surg Endosc* 21:2193-2198.
- ¹¹⁸ Wilkerson P M, Stratford J, Jones L, Sohanpal J, Booth M I, Dehn T C (2005) A poor response to proton pump inhibition is not a contraindication for laparoscopic antireflux surgery for gastro esophageal reflux disease. *Surg Endosc* 19:1272-1277.
- ¹¹⁹ Peters J H, Hagen J A, DeMeester S R (2004) Barrett's esophagus. *J Gastrointest Surg* 8:1-17.
- ¹²⁰ Attwood S E, Lundell L, Hatlebakk J G, Eklund S, Junghard O, Galmiche J P, Ell C, Fiocca R, Lind T (2008) Medical or surgical management of GERD patients with Barrett's esophagus: the LOTUS trial 3-year experience. *J Gastrointest Surg* 12:1646-1654; discussion 1654-1645.
- ¹²¹ Sharma P, Falk G W, Weston A P, Reker D, Johnston M, Sampliner R E (2006) Dysplasia and cancer in a large multicenter cohort of patients with Barrett's esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* 4:566-572.
- ¹²² Vaughan T L, Dong L M, Blount P L, Ayub K, Odze R D, Sanchez C A, Rabinovitch P S, Reid B J (2005) Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of neoplastic progression in Barrett's oesophagus: a prospective study. *Lancet Oncol* 6:945-952.
- ¹²³ Carlsson R, Dent J, Watts R, *et al* – Gastro-oesophageal reflux disease in primary care: an international study of different treatment strategies with omeprazole. International GORD Study Group. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1998;10(2):119-124.
- ¹²⁴ Bernstein H, Bernstein C, Payne CM, Dvorakova K, Garewall H – Bile acids as carcinogens in human gastrointestinal cancers. *Mutat. Res.* 589, 47-65 (2205).
- ¹²⁵ DeMeester SR – Reflux, Barrett's and Adenocarcinoma of the Esophagus: Can We Disrupt the Pathway? *J Gastrointest Surg* (20120) 14:941-945. DOI 10.1007/s11605-009-1146-6.
- ¹²⁶ Montgomery E, Bronner M P, Goldblum J R, Greenson J K, Haber M M, Hart J, Lamps L W, Lauwers G Y, Lazenby A J, Lewin D N, Robert M E, Toledano A Y, Shyr Y, Washington K (2001) Reproducibility of the diagnosis of dysplasia in Barrett esophagus: a reaffirmation. *Hum Pathol* 32:368-378.

- ¹²⁷ Hofstetter W L, Peters J H, DeMeester T R, Hagen J A, DeMeester S R, Crookes P F, Tsai P, Banki F, Bremner C G (2001) Long-term outcome of antireflux surgery in patients with Barrett's esophagus. *Ann Surg* 234:532-538; discussion 538-539
- ¹²⁸ Parrilla P, Martinez de Haro L F, Ortiz A, Munitiz V, Molina J, Bermejo J, Canteras M (2003) Long-term results of a randomized prospective study comparing medical and surgical treatment of Barrett's esophagus. *Ann Surg* 237:291-298.
- ¹²⁹ Gurski RR, Peters JH, Hagen JA *et al* – Barrett's esophagus can and does regress after antireflux surgery: a study of prevalence and predictive features. *J Am Coll Surg*. 2003;196(5):706-712; discussion 712-713.
- ¹³⁰ Peters JH, Hagen JA, DeMeester SR – Barrett's esophagus. *J gastrointest Surg*. 2004;8(1):11-17.
- ¹³¹ Korst RJ, Altorki NK – High grade dysplasia: surveillance, mucosal ablation or resection? *World J Surg*. 2003;27(9):1030-1034.
- ¹³² Prasad G A, Wu T T, Wigle D A, Buttar N S, Wongkeesong L M, Dunagan K T, Lutzke L S, Borkenhagen L S, Wang K K (2009) Endoscopic and surgical treatment of mucosal (T1a) esophageal adenocarcinoma in Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 137:815-823.
- ¹³³ Das A, Wells C, Kim H J, Fleischer D E, Crowell M D, Sharma V K (2009) An economic analysis of endoscopic ablative therapy for management of nondysplastic Barrett's esophagus. *Endoscopy* 41:400-408.
- ¹³⁴ Konda VJ, Ross AS Ferguson MK *et al* – Is the risk of concomitant invasive esophageal cancer in high-grade dysplasia in Barrett's esophagus overestimated? *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008; 6(2):159-164.
- ¹³⁵ Wang KK, Sampliner RE – Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol*. Mar 2008;103(3):788-797.
- ¹³⁶ Stein HJ, Feith M, Mueller J, Werner M, Siewert JR – Limited resection for early adenocarcinoma in Barrett's esophagus. *Ann Surg*. 2000;232(6):733-742.
- ¹³⁷ Cowgill S M, Gillman R, Kraemer E, Al-Saadi S, Villadolid D, Rosemurgy A (2007) Ten-year follow up after laparoscopic Nissen fundoplication for gastroesophageal reflux disease. *Am Surg* 73:748-752; discussion 752-743.
- ¹³⁸ Zeman Z, Tihanyi T (2007) Quality of life and patient satisfaction after laparoscopic antireflux surgery using the QOLARS questionnaire. *Surg Endosc* 21:1418-1422.
- ¹³⁹ Zacharoulis D, O'Boyle C J, Sedman P C, Brough W A, Royston C M (2006) Laparoscopic fundoplication: a 10-year learning curve. *Surg Endosc* 20:1662-1670.
- ¹⁴⁰ Allen C J, Anvari M (2004) Does laparoscopic fundoplication provide long-term control of gastroesophageal reflux related cough? *Surg Endosc* 18:633-637.
- ¹⁴¹ Anvari M, Allen C (2003) Surgical outcome in gastro-esophageal reflux disease patients with inadequate response to proton pump inhibitors. *Surg Endosc* 17:1029-1035.
- ¹⁴² Cuschieri A, Hunter J, Wolfe B, Swanstrom L L, Hutson W (1993) Multicenter prospective evaluation of laparoscopic antireflux surgery. Preliminary report. *Surg Endosc* 7:505-510.
- ¹⁴³ Allen C J, Anvari M (1998) Gastro-oesophageal reflux related cough and its response to laparoscopic fundoplication. *Thorax* 53:963-968.
- ¹⁴⁴ Granderath F A, Granderath U M, Pointner R (2008) Laparoscopic revisional fundoplication with circular hiatal mesh prosthesis: the long-term results. *World J Surg* 32:999-1007.
- ¹⁴⁵ Kiviluoto T, Siren J, Farkkila M, Luukkonen P, Salo J, Kivilaakso E (1998) Laparoscopic Nissen fundoplication: a prospective analysis of 200 consecutive patients. *Surg Laparosc Endosc* 8:429-434 222.
- ¹⁴⁶ Spechler S J, Lee E, Ahnen D, Goyal R K, Hirano I, Ramirez F, Raufman J P, Sampliner R, Schnell T, Sontag S, Vlahcevic Z R, Young R, Williford W (2001) Long-term outcome of medical and surgical therapies for gastroesophageal reflux disease: follow-up of a randomized controlled trial. *JAMA* 285:2331-2338.
- ¹⁴⁷ Desai K M, Soper N J, Frisella M M, Quasebarth M A, Dunnegan D L, Brunt L M (2003) Efficacy of laparoscopic antireflux surgery in patients with Barrett's esophagus. *Am J Surg* 186:652-659.
- ¹⁴⁸ Desai K M, Frisella M M, Soper N J (2003) Clinical outcomes after laparoscopic antireflux surgery in patients with and without preoperative endoscopic esophagitis. *J Gastrointest Surg* 7:44-51; discussion 51-42.
- ¹⁴⁹ Huttli T P, Hohle M, Wichmann M W, Jauch K W, Meyer G (2005) Techniques and results of laparoscopic antireflux surgery in Germany. *Surg Endosc* 19:1579-1587.
- ¹⁵⁰ Brouwer R, Kiroff G K (2003) Improvement of respiratory symptoms following laparoscopic Nissen fundoplication. *ANZ J Surg* 73:189-193.
- ¹⁵¹ Triponez F, Dumonceau J M, Azagury D, Volonte F, Slim K, Mermillod B, Huber O, Morel P (2005)

Reflux, dysphagia, and gas bloat after laparoscopic fundoplication in patients with incidentally discovered hiatal hernia and in a control group. *Surgery* 137:235-242.

¹⁵² Ozmen V, Oran E S, Gorgun E, Asoglu O, Igci A, Kecer M, Dizdaroglu F (2006) Histologic and clinical outcome after laparoscopic Nissen fundoplication for gastroesophageal reflux disease and Barrett's esophagus. *Surg Endosc* 20:226-229.

¹⁵³ Salminen P T, Laine S O, Ovaska J T (2006) Late subjective results and symptomatic outcome after laparoscopic fundoplication. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 16:203-207.

¹⁵⁴ Fernando H C, Schauer P R, Buenaventura P O, Christie N A, Close J M, Luketich J D (2003) Outcomes of minimally invasive antireflux operations in the elderly: a comparative review. *JLS* 7:311-315.

¹⁵⁵ Champault G G, Barrat C, Rozon R C, Rizk N, Catheline J M (1999) The effect of the learning curve on the outcome of laparoscopic treatment for gastroesophageal reflux. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 9:375-381.

¹⁵⁶ Brehant O, Pessaux P, Arnaud J P, Delattre J F, Meyer C, Baulieux J, Mosnier H (2006) Long-term outcome of laparoscopic antireflux surgery in the elderly. *J Gastrointest Surg* 10:439-444

¹⁵⁷ Franzén T, Anderberg B, Tibbling GL, Johansson KE. Patient outcomes and dysphagia after laparoscopic antireflux surgery performed without use of intraoperative dilators. *Am Surg*. 2003; 69 (3): 219-223.

¹⁵⁸ Ciovica R, Gadenstatter M, Klingler A, Neumayer C, Schwab G P (2005) Laparoscopic antireflux surgery provides excellent results and quality of life in gastroesophageal reflux disease patients with respiratory symptoms. *J Gastrointest Surg* 9:633-637.

¹⁵⁹ Allen C J, Anvari M (2004) Does laparoscopic fundoplication provide long-term control of gastroesophageal reflux related cough? *Surg Endosc* 18:633-637.

¹⁶⁰ Kaufman J A, Houghland J E, Quiroga E, Cahill M, Pellegrini C A, Oelschlager B K (2006) Long-term outcomes of laparoscopic antireflux surgery for gastroesophageal reflux disease (GERD)-related airway disorder. *Surg Endosc* 20:1824-1830.

¹⁶¹ Brouwer R, Kiroff G K (2003) Improvement of respiratory symptoms following laparoscopic Nissen fundoplication. *ANZ J Surg* 73:189-193.

¹⁶² Anvari M, Allen C (2003) Surgical outcome in gastro-esophageal reflux disease patients with inadequate response to proton pump inhibitors. *Surg Endosc* 17:1029-1035.

¹⁶³ Hong D, Swanstrom L L, Khajanchee Y S, Pereira N, Hansen P D (2004) Postoperative objective outcomes for upright, supine, and bipositional reflux disease following laparoscopic Nissen fundoplication. *Arch Surg* 139:848-852; discussion 852-844.

¹⁶⁴ Hinder R A, Filipi C J, Wetscher G, Neary P, DeMeester T R, Perdakis G (1994) Laparoscopic Nissen fundoplication is an effective treatment for gastroesophageal reflux disease. *Ann Surg* 220:472-481; discussion 481-473.

¹⁶⁵ Gad El-Hak N, Abo Zied M, Aboelenen A, Fouad A, Abd Alla T, El-Shoubary M, Kandel T, Hamdy E, Abdel Wahab M, Fathy O, El-ebidy G, Sultan A, Elfiky A, Elghwalby N, Ezzat F (2005) Short gastric vessels division in Laparoscopic Nissen Fundoplication. *Hepatogastroenterology* 52:1742-1747.

¹⁶⁶ Ciovica R, Gadenstatter M, Klingler A, Lechner W, Riedl O, Schwab G P (2006) Quality of life in GERD patients: medical treatment versus antireflux surgery. *J Gastrointest Surg* 10:934-939.

¹⁶⁷ Neuhauser B, Hinder R A (2001) Laparoscopic reoperation after failed antireflux surgery. *Semin Laparosc Surg* 8:281-286.

¹⁶⁸ Walsh J D, Landercasper J, Boyd W C, Lambert P J, Havlik P J (2003) Patient outcomes and dysphagia after laparoscopic antireflux surgery performed without use of intraoperative esophageal dilators. *Am Surg* 69:219-223; discussion 223-214.

¹⁶⁹ Champion J K (2003) Thoracoscopic Belsey fundoplication with 5-year outcomes. *Surg Endosc* 17:1212-1215.

¹⁷⁰ Chekan EG, Pappas TN. The Laparoscopic Management of Gastroesophageal Reflux Disease. *Advances in Surgery*, vol 32, 1999; 305-330.

¹⁷¹ Muller-Stich B P, Reiter M A, Wentz M N, Bintintan V V, Koninger J, Buchler M W, Gutt C N (2007) Robot-assisted versus conventional laparoscopic fundoplication: short-term outcome of a pilot randomized controlled trial. *Surg Endosc* 21:1800-1805.

¹⁷² Draaisma W A, Ruurda J P, Scheffer R C, Simmermacher R K, Gooszen H G, Rijnhart-de Jong H G, Buskens E, Broeders I A (2006) Randomized clinical trial of standard laparoscopic versus robot-assisted laparoscopic Nissen fundoplication for gastro-oesophageal reflux disease. *Br J Surg* 93:1351-1359.

¹⁷³ Niebisch S, Fleming FJ, Galey KM, Wilshire CL, Jones CE, Litle VR, Watson TJ, Peters JH – Perioperative Risk of Laparoscopic Fundoplication: Safer than Previously Reported-Analysis of the

American College of Surgeons. National Surgical Quality Improvement Program 2005 to 2009. *J Am Coll Surg*. 2012 May 9. PMID: 22578304.

¹⁷⁴ Rosenthal R, Peterli R, Guenin M O, von Flue M, Ackermann C (2006) Laparoscopic antireflux surgery: long-term outcomes and quality of life. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 16:557-561.

¹⁷⁵ Zaninotto G, Portale G, Costantini M, Rizzetto C, Guirrolì E, Ceolin M, Salvador R, Rampado S, Prandin O, Ruol A, Ancona E (2007) Long-term results (6-10 years) of laparoscopic fundoplication. *J Gastrointest Surg* 11:1138-1145.

¹⁷⁶ Kamolz T, Grandérath F, Pointner R (2003) Laparoscopic antireflux surgery: disease-related quality of life assessment before and after surgery in GERD patients with and without Barrett's esophagus. *Surg Endosc* 17:880-885.

¹⁷⁷ Desai MD, Soper NJ, Jones DB. Nissen Fundoplication. In: Daniel B Jones, Justin S Wu, Nathaniel J Soper eds. *Laparoscopic Surgery, Principles and Procedures*. 2nd edition. New York: Marcel Dekker, Inc; 2004. 259-271.

¹⁷⁸ Eleftheriadis E, Kotzampassi K, Vafiadis M et al.: 24-hr measurement of gastric mucosal perfusion in conscious humans. *Hepatogastroenterology* 1998; 45(24): 2453.

¹⁷⁹ Ahn H, Ivarsson LE, Johansson K et al.: Assessment of gastric blood flow with laser Doppler flowmetry. *Scand J Gastroenterol* 1988; 23(10): 1203-10.

¹⁸⁰ Duranteau J, Sitbon P, Teboul JL: Effects of epinephrine, norepinephrine, or the combination of norepinephrine and dobutamine on gastric mucosa in septic shock. *Crit Care Med* 1999; 27(5):893-900.

¹⁸¹ Iwao T, Toyonaga A, Shigemori H: Omeprazole administration does not impair gastrointestinal mucosal perfusion, oxygenation, and hexosamine generation. *Gastrointest Endosc* 1995; 41(5): 497-501.

¹⁸² Kato S, Hirata T, Kitamura M: Gastric hyperemic response during vagally mediated acid secretion by TRH analog in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 282(3): 1351-57.

¹⁸³ Kato S, Hirata T, Takeuchi K: Nitric oxide, prostaglandin, and sensory neurons in gastric mucosal blood flow response during acid secretion in rats. *Gen Pharmacol* 1997; 28(4): 513-19.

¹⁸⁴ Kato S, Okabe S, Takeuchi K: Pathways mediating pentagastrin-induced mucosal blood flow response in rat stomachs. *Dig Dis Sci* 1996; 41(3):485-91.

¹⁸⁵ Kato S, Takeuchi K, Okabe S: Mechanism by which histamine increases gastric mucosal blood flow in the rat. Role of luminal H⁺. *Dig Dis Sci* 1993; 38(7): 1224-32.

¹⁸⁶ Boyle NH, Pearce A, Hunter D: Intraoperative scanning laser Doppler flowmetry in the assessment of gastric tube perfusion during esophageal resection. *J Am Coll Surg* 1999; 188(5): 498-502.

¹⁸⁷ Przywara S, Wallner G, Dąbrowski A i wsp.: Zastosowanie metody laserowej przepływometrii dopplerowskiej do oceny ukrwienia zespoleń przelykowego u chorych poddawanych operacji rekonstrukcji przelyku. *Acta Bio-optica et Informatica Medica* 2005; 3-4 (12): 32-34.

¹⁸⁸ Schilling UK, Redaelli C, Friess H: Evaluation of laser doppler flowmetry for the study of benign and malignant gastric blood flow in vivo. *Gut* 1999; 45(3): 341-45.

¹⁸⁹ Allen PI, Chesner I, Wheatley K: Human gastric perfusion: evidence for non-uniformity of blood flow. *Br J Surg* 1988; 75(8): 741-42.

¹⁹⁰ Gana TJ, Soenen GM, Fook J: A controlled study of human resting gastric mucosal blood flow by endoscopic laser-Doppler flowmetry. *Gastrointest Endosc* 1990; 36(3): 264-67.

¹⁹¹ Johansson K: Regional blood flow and reflux gastritis in the resected stomach. *Endoscopy* 1994; 26(9): 745-47.

¹⁹² Wallner G: Fundoplikacja Nissena-Rossetti'ego w chirurgicznym leczeniu choroby z zarzucania żołądkowo-przelykowego [rozprawa]. Akademia Medyczna, Lublin 1996.

¹⁹³ Sato N, Kawano S, Tsuji S: Gastric blood flow in ulcer diseases. *Scand J Gastroenterol (Suppl)* 1995; 208: 14-20.

¹⁹⁴ Clarke DL, Thomson SR: Attenuated gastric mucosal blood flow predicts non-healing of benign gastric ulcers. *Eur Surg Res* 2002; 34(6): 432-36.

¹⁹⁵ Guslandi M, Sorghi M, Foppa L: Congestive gastropathy versus chronic gastritis: a comparison of some pathophysiological aspects. *Digestion* 1993;54(3): 160-62.

¹⁹⁶ Yamaguchi T: Relationship between gastric mucosal hemodynamics and gastric motility. *Gastroenterol Jpn* 1990; 25(3): 299-305.

¹⁹⁷ Misiuna P, Wallner G: Should modified Heller's cardiomyotomy be combined with antireflux procedure? W: *Recent advances in diseases of the esophagus* (eds. Nabeya K, Hanaoka T, Nogami H) Springer Verlag, Tokyo 1993: 212-17.

¹⁹⁸ Wallner G, Misiuna P, Polkowski W: Clinical evaluation of long term results of cardiomyotomy for achalasia. W: *Joint Meeting of Surgery, Gastroenterology and endoscopy* (eds. Moreno-Gonzales E, Balibrea JL, Escartin P, Pajares JM., Lygidakis NJ, Hidalgo-Pascual M). International Gastro-Surgical Club Proceedings, Jarpyo Editores Madrid 1994:135-139.

- ¹⁹⁹ Soper NJ – Laparoscopic Management of Hiatal Hernia and Gastroesophageal Reflux. CPS, Vol 36, Number 10, October 1999: 767-838.
- ²⁰⁰ Roger T – Anatomie comparée des animaux de laboratoire. La region abdominale: appareils digestif, appareil renal et genital (mâle ou femelle).
- ²⁰¹ Cooper G, Schiller A. Anatomy of the guinea pig. Cambridge, Mass.: Harvard University Press, 1975.
- ²⁰² Cook M J. The anatomy of the laboratory mouse. New York: Academic Press Inc., 1965.
- ²⁰³ Shively MJ, Stump JE – The systemic arterial pattern of the guinea pig: The abdomen. Volume 182, 1975, Issue 3:355-366.
- ²⁰⁴ Piasecki C, Wyatt C – Patterns of blood supply to the gastric mucosa. A comparative study revealing an end-artery model. J. Anat. (1986), 149, pp.21-39.
- ²⁰⁵ Beynen, M. F.W. Festing and M. A. J. van Montfort – Design of animals experiments. In Principles of Laboratory Animal Science. Revised edition. Elsevier 2010, 219-249.
- ²⁰⁶ Junqueira PL, Ubatuba FB. Espécies de animais empregadas em experimentação laboratorial. www.unb.br/fs/clm/labcor/Animalab/Animalab.htm.
- ²⁰⁷ Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC- Principles of Laboratory Animal Science. A contribution to the humane use and care of animals and to the quality of experimental results. Revised edition. Elsevier 2010, 1-416.
- ²⁰⁸ Hebel R, Stromberg M W. Anatomy and embryology of the laboratory rat. Baltimore, Mass: Williams & Wilkins, 1988.
- ²⁰⁹ Baker H J, Lindsey R J, Weisbroth S H. eds. The laboratory rat. Vol. 1-2. New York: Academic Press Inc., 1979.
- ²¹⁰ Bullock G, Bunton T E. Handbook of experimental animals series. Sidcup, UK: Academic Press/Harcourt Publ. Ltd, 2000.
- ²¹¹ Havennar R, Meijer JC, Morton DB, Ritskes-Hoitinga J, Zwart P – Biology and husbandry of laboratory animals. In Principles of Laboratory Animal Science. Revised edition. Elsevier 2010, 19-102.
- ²¹² Harkness J E, Wagner J E. The biology and medicine of rabbits and rodents. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1989.
- ²¹³ Fuss S – Physiologie et Pathologie Digestives du Cobaye Domestique *Cavia porcellus*. These pour obtenir le grade de Docteur Veterinaire. Diplome d'Etat. Présentée et soutenue publiquement en 2002, devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse. These 2002: TOU 3-1472.
- ²¹⁴ Combrisson H – Anesthésie des animaux de laboratoire, 2002.
- ²¹⁵ Morton D B. Griffiths P H M. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and a hypothesis for assessment. Vet Rec 1985; 116: 431—436.
- ²¹⁶ Radde GR, Hinson A, Crenshaw D, Toth LA (1996) Evaluation of anaesthetic regimens in guineapigs. *Lab ora to ry Anim als* 30, 220±7.
- ²¹⁷ Brammer JF, West CD, AQLlen SL (1992) – A comparison of propofol with other injectable anaesthetics in a rat model for measuring cardiovascular parameters. *Laboratory Animals* 27,250-257.
- ²¹⁸ Flecknell PA – Laboratory animal anaesthesia, 2nd ed, London: Academic Press, 1996.
- ²¹⁹ Aeschbacher G, Webb AI. Propofol in rabbits. 1. Determination of an induction dose. *Lab Anim Sci.* 1993 Aug;43(4):324-7. PMID: 8231089.
- ²²⁰ Hellebrekers LJ, ed. *Animal Pain: A Practice-Oriented Approach to Effective Pain Control in Animals*. Iowa State University Press, Ames, 2001, ISBN 90-5805-030-0.
- ²²¹ Pina AEP, Pais D – As técnicas de obtenção de moldes vasculares por injeção corrosão para os estudos macro e microvasculares dos diversos órgãos e tecidos. I parte: Aspectos gerais na preparação de moldes vasculares. *Anais Portugueses de Medicina Vol II (1997) nº374 (121-126)*.
- ²²² Goyri O'Neill, J.E.; Von Hagens, G.; Esperança Pina, J.A. (1982): Modificações à Técnica de Diafanização. I in *Actas do V International Symposium on Morphological Sciences*. Rio de Janeiro.
- ²²³ Goyri O'Neill, J.E. (1983): *Vascularização da Placenta Humana*. Dissertação de Doutoramento. Fac. Ciên. Méd. Lisboa.
- ²²⁴ Goyri O'Neill, J.E. (1984): *Plastinização sua Contribuição ao Ensino e Investigação em Anatomia*. U.N.L. Lisboa.
- ²²⁵ Pais DFB – *Vascularização Arterial e Microvascularização Testículo-Epididimária*. Dissertação de Candidatura ao Grau de Doutor em Medicina pela Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Ciências Médicas. Lisboa, 1995.
- ²²⁶ Lametschwandtner A., L Lametschwandtner U., Weiger T. *Scanning electron microscopy of vascular corrosion casts - Technique and applications*. *Scanning microsc*, 1984, II: 663-695.
- ²²⁷ Aharinejad, S., P. Franz, et al. (1989). "Esophageal vasculature in the guinea pig: a scanning electron microscope study of vascular corrosion casts." *Scanning Microsc* 3(2): 567-573; discussion 574.

- ²²⁸ Lametschwandtner, A., U. Lametschwandtner, et al. (1990). "Scanning electron microscopy of vascular corrosion casts--technique and applications: updated review." *Scanning Microsc* 4(4): 889-940; discussion 941.
- ²²⁹ Aharinejad S, Lametschwandtner A - Microangioarchitecture of the guinea pig gallbladder and common bile duct as studied by scanning electron microscopy of vascular corrosion casts. *J. Anat* (1992) 181. pp.89-100. with 12 figures.
- ²³⁰ Pina AEP, Pais D – As técnicas de obtenção de moldes vasculares por injeção corrosão para os estudos macro e microvasculares dos diversos órgãos e tecidos. III parte: Técnica de moldes microvasculares para microscopia eletrónica de varrimento. *Anais Portugueses de Medicina Vol III* (1998) n° 2-3 (33-40).
- ²³¹ Lametschwandtner A e tal – Course on scanning electron microscopy of microvascular corrosion casts: Theory and Applications. *Universitat Salzburg*; May 25-June 3, 2009:1-113.
- ²³² Miodonski AJ, Hodde KC, Bakker C (1976). Rasterlektronenmikroskopie von Plastik-Korrosions-Präparaten: morphologische Unterschiede zwischen Arterien und Venen. *Berichte elektronenmikroskopische Direktabbildung von Oberflächen* 9, 435-442.
- ²³³ Aharinejad, S., P. Bock, et al. (1991). "Sphincters in the rat pulmonary veins. Comparison of scanning electron and transmission electron microscopic studies." *Scanning Microsc* 5(4): 1091-1096.
- ²³⁴ Aharinejad, S., P. Bock, et al. (1992). "Scanning and transmission electron microscopy of venous sphincters in the rat lung." *Anat Rec* 233(4): 555-568.
- ²³⁵ Jackowiak H - Microangioarchitecture of the mucosa of the antrum pyloricum in rabbit. *Anat Histol Embryol*. 1996 Sep ;25 (3):155-9 9027243.
- ²³⁶ Khattab FKI – Histological and Ultrastructural Studies on the Gastric Mucosa Rat after treatment with Ethylene Glycol. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1(3):157-168, 2007. ISSN 1991-8178.
- ²³⁷ Aughey E, Frye F – *Comparative Veterinary Histology With Clinical Correlates*. Manson Publishing, 2001, 297 páginas, 107-113.
- ²³⁸ Ghoshal NG & Bal HS. *Comparative morphology of the stomach of some laboratory mammals. Laboratory Animals* (1989) 23, 21-29.
- ²³⁹ Michels NA – *Blood supply and Anatomy of the Upper Abdominal Organs*. J. B. Lippincott Co Philadelphia, 1955; Pp 248-274.
- ²⁴⁰ Barlow TE, Bentley FH, Walder DN – *Arteries, veins, and arteriovenous anastomoses in the human stomach. Surg. Gynec. Obstet.*,93:657, 1951.
- ²⁴¹ Esperança Pina JA – *Territórios arteriais esplénicos. Bases anátomo-experimentais das esplenectomias parciais*. Ed Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências Médicas. 1ª Edição em Português, 1979; 19-38.
- ²⁴² Leriche R, Villemain F – *Recherches anatomiques sur les artères de l' estomac. Bibl Anat* 1907; 16:111-125 [citado por Vandamme JP, 1985 e1986].
- ²⁴³ Piquand G – *Recherches sur l' anatomie du tronc coeliaque et de ses branches. Bibl Anat* 1910; 19:159-201 [citado por Vandamme JP, 1985 e1986].
- ²⁴⁴ Rio Branco SP – *Essai sur l'Anatomie et la Médecine Opératoire du tronc coeliaque et de ses branches et la artère hépatique en particulier. Steinheil, Paris, 1912* [citado por Vandamme JP, 1985 e1986].
- ²⁴⁵ Kosinski C – *Quelques observations sur les rameaux du tronc coeliaque. C R AssAnat*, 1928; 23:241-260 [citado por Vandamme JP, 1985 e1986].
- ²⁴⁶ Rossi G, Cova E – *studio morfologico delle arterie dello stomaco. Arch Ital Anat Embriol* 1904; 3: 485-657 [citado por Vandamme JP, 1985 e1986].
- ²⁴⁷ Lipschutz B – *A composite study of the coelic artery. Ann Surg* 1917; 65:159-169 [citado por Vandamme JP, 1985 e1986].
- ²⁴⁸ Bertocchi A, Bianco V – *La circolazione arteriosa dello stomaco normale. Bull Mém Soc Piém Chir* 1948; 18:550-589 [citado por Vandamme JP, 1985 e1986].
- ²⁴⁹ Cunningham G, 1950
- ²⁵⁰ Vandamme JP, Bonte J – *Systematisation of the arteries in the splenic hilus. Acta Anat (Basel)* 1986; 125(4):217-24.
- ²⁵¹ Nishiguchi T, Kitamura S, Matsuoka K, Sakai A. *A case of the three branches of the coeliac trunk arising directly from the abdominal aorta. Acta Anatomica Nipponica* 1998 Dec;63(6): 553-556.
- ²⁵² Pires MAB; Roque RR; Cabral D; O'Neill G, JE; Pina JAE. «*Variações anatómicas do tronco celíaco – Estudo Experimental, pela técnica de Injeção-corrosão-fluorescência em Canis Familiaris*» In Livro de resumos da XLV Reunião da Sociedade Anatómica Portuguesa, ICBAS, Porto, 27 de Novembro de 2010.
- ²⁵³ Tandler J. *Über die Varietäten der Arteria coeliaca und deren Entwicklung. Anat Hefte* 1904;25:472-500.
- ²⁵⁴ Jauregui E – *Anatomy of the splenic artery. Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba* 1999; 56(1):21-41.

- ²⁵⁵ Michels N – Blood supply and anatomy of the upper abdominal organs. Lippincott, Philadelphia, 1955 [citado por Vandamme JP, 1985 e1986].
- ²⁵⁶ Cougard P, Trouilloud P, Morizot B, Gelle MC, Autissier JM – Study of the vascular segmentation of the spleen. *Bull Assoc Anat (Nancy)* 1984 Mar; 68(200): 27-13.
- ²⁵⁷ Romero TR – Portal hypertension and splenic circulation. *Rev gastrenterol Peru* 1995; 15 Suppl 1:S110-7
- ²⁵⁸ Pires MAB – Vascularização e segmentação vascular do baço de “Canis familiaris”. Provas de aptidão pedagógica e capacidade científica na FCM, Lisboa, 1:120, 2002.
- ²⁵⁹ Ignjatovic D, Djuric B, Perunovic R, Scepanovic R – Surgical Anatomy of the short Gastric Arteries. *Folia Anatomica* 1998, 26 (1) http://www.beograd.com/fovia_anatomica/Dekac2.htm
- ²⁶⁰ Bergman RA, Afifi AK, Miyauchi R – Splenic Artery. In *Virtual Hospital Illustrated Encyclopedia of Human Anatomic Variation: Part II Cardiovascular System* <http://www.vh.org/http://www.vh.org/> (1992-2000, last modified 1999 Jul.)
- ²⁶¹ Archie JP Jr – Splenic artery stump back pressure. *Am.J.Surg* 1992 Aug; 58(8):504-5.
- ²⁶² Ross MH, Pawlina W – Histologia: texto e atlas. Em correlação com a biologia celular e molecular. 5ª Edição. Sistema Digestivo II: esôfago e tracto gastrointestinal. Editora Guanabara Koogan SA, 2008; 529-539.
- ²⁶³ Owen D – Stomach, in *Histology for Pathologists*. Editor Stephen S Sterneberg. Raven Press1992. Chapter 27, pg 533-545.
- ²⁶⁴ Ruiz-Tovar J, Diez-Tabernilla M, Chames A, Morales V, Mania Molina E. Clinical outcome at 10 years after laparoscopic versus open Nissen fundoplication. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2010 Feb;20(1):21-23.
- ²⁶⁵ Salminen PT, Hiekkanen HI, Ranrala AP, Ovaska JT. Comparison of long-term outcome of laparoscopic and conventional Nissen fundoplication: a prospective randomized study with an 11-year follow-up. *Surg*. 2007Aug; 246(2):201-206.
- ²⁶⁶ So JB, Zeitels SM, Rattner DW. Outcomes of atypical symptoms attributed to gastroesophageal reflux treated by laparoscopic fundoplication *Surgery*. 1998 Jul; 124(1):28-32.
- ²⁶⁷ Fernando HC, Schauer PR, Rosenblatt M, et al. Quality of life after antireflux surgery compared with nonoperative management for severe gastroesophageal reflux disease. *J Am Coll Surg*. 2002; 194(1):23-27.
- ²⁶⁸ Gannon B, Browning J, O'Brien P – The microvascular architecture of the glandular mucosa of rat stomach. *J. Anat.* (1982), 135, 4, pp.667-683.
- ²⁶⁹ Montgomery RA, Venbrux AC, Bulkley – Mesenteric Vascular Insufficiency. *Current Problems in Surgery*. Vol 34,12: 943-1027, 1997.
- ²⁷⁰ Hall JE – Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, 12th edition, by Saunders, an imprint of Elsevier Inc, 2010.
- ²⁷¹ Lamas S, Azuara D, de Oca J, Sans M, Farran L, Alba E, Escalante E, Rafecas A. – Time course of necrosis/apoptosis and neovascularization during experimental gastric conditioning. *Dis Esophagus*. 2008;21(4):370-6.
- ²⁷² Kumar V, Abbas A K, Fausto N, Aster JC – Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 8th edition: Saunders 2010, pp.43-77.
- ²⁷³ Abbas AK, Lichman AH – Cellular and Molecular Immunology, 5th ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2003.
- ²⁷⁴ Watson TJ, Peters JH – Lower esophageal sphincter injections for the treatment of gastroesophageal reflux disease. *Thorac Surg Clin* 2005; 15; 405-415.
- ²⁷⁵ El-Serag H B, Ergun G A, Pandolfino J, Fitzgerald S, Tran T, Kramer J R (2007) Obesity increasesoesophageal acid exposure. *Gut* 56:749-755.
- ²⁷⁶ Hampel H, Abraham N S, El-Serag H B (2005) Meta-analysis: obesity and the risk for gastroesophageal reflux disease and its complications. *Ann Intern Med* 143:199-211.
- ²⁷⁷ Morgenthal C B, Lin E, Shane M D, Hunter J G, Smith C D (2007) Who will fail laparoscopic Nissen fundoplication? Preoperative prediction of long-term outcomes. *Surg Endosc* 21:1978-1984.
- ²⁷⁸ Perez A R, Moncure A C, Rattner D W (2001) Obesity adversely affects the outcome of antirefluxo operations. *Surg Endosc* 15:986-989.
- ²⁷⁹ Kendrick M L, Houghton S G (2006) Gastroesophageal reflux disease in obese patients: the role of obesity in management. *Dis Esophagus* 19:57-63.
- ²⁸⁰ Sise A, Friedenberg F K (2008) A comprehensive review of gastroesophageal reflux disease and obesity. *Obes Rev* 9:194-203.

²⁸¹ Frezza E E, Ikramuddin S, Gourash W, Rakitt T, Kingston A, Luketich J, Schauer P (2002) Symptomatic improvement in gastroesophageal reflux disease (GERD) following laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass. *Surg Endosc* 16:1027-1031.

²⁸² Smith S C, Edwards C B, Goodman G N (1997) Symptomatic and clinical improvement in morbidly obese patients with gastroesophageal reflux disease following Roux-en-Y gastric bypass. *Obes Surg* 7:479-484.