

*ANA PAULA CAMPOS MELRO*

*AVALIAÇÃO DO ESVAZIAMENTO GÁSTRICO DE LÍQUIDOS  
EM RATOS COM LESÃO NEUROLÓGICA  
HIPÓXICO-ISQUÊMICA*

*CAMPINAS*

*2004*

**ANA PAULA CAMPOS MELRO**

***AVALIAÇÃO DO ESVAZIAMENTO GÁSTRICO DE LÍQUIDOS  
EM RATOS COM LESÃO NEUROLÓGICA  
HIPÓXICO-ISQUÊMICA***

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação  
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade  
Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre  
em Cirurgia, na área de Cirurgia.*

***ORIENTADOR: PROF. DR. JOAQUIM MURRAY BUSTORFF-SILVA***

**CAMPINAS**

**2004**



**BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

---

**Orientador: Prof. Dr. Joaquim Murray Bustorff-Silva**

Membros

1.

2.

3.

Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

**Data : 06/02/2004**

**DEDICATÓRIA:**

*À minha filha Vitória, que com o seu sorriso ilumina meu caminho, e torna os obstáculos mais fáceis de serem superados,*

*Ao meu marido Carlos Alberto, pelo companheirismo e ajuda constantes,*

*Às crianças neuropatas e seus familiares, pelas dificuldades e sofrimento.*

## ***AGRADECIMENTOS***

---

Ao Prof. Dr. Joaquim Murray Bustorff-Silva pela atenção, orientação decisiva e apoio em todos os momentos,

Aos meus pais, Virley Alonso e Maria Odila, pelo incentivo e ajuda,

À Dra Márcia Alessandra Cavalaro, pela amizade e colaboração,

Aos biólogos Ana Cristina de Moraes e William Adalberto Silva, e os funcionários, Valdemir Benedito Costa e Miguel Luis Cândido, do Laboratório de Técnica Cirúrgica, pelo preparo dos animais e ajuda nos procedimentos operatórios,

Ao Prof. Dr. Edgard Ferro Collares e à bióloga Adriana Vinagre, do Laboratório de Gastropediatria, pelos ensinamentos e ajuda durante o estudo do esvaziamento gástrico,

Aos patologistas Prof. Dr Marco R. Campello Souza e Dra Gláucia Monteiro, pelo estudo histopatológico,

À professora Maria Odila Soares Campos pela revisão gramatical.

*Todo jardim começa com um sonho de amor.  
Antes que qualquer árvore seja plantada ou  
qualquer lago seja construído, é preciso que  
as árvores e os lagos tenham nascido dentro  
da alma.*

*Quem não tem jardins por dentro, não planta  
jardins por fora, e nem passeia por ele.*

**Rubens Alves**

## **SUMÁRIO**

---

	<b>PÁG.</b>
<b>RESUMO</b> .....	<i>xi</i>
<b>ABSTRACT</b> .....	<i>xiv</i>
<b>1-INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2-OBJETIVO</b> .....	29
<b>3-MÉTODO</b> .....	31
Delineamento experimental.....	32
Animais.....	32
Técnica Operatória.....	34
Refeição de Prova.....	38
Estudo do Esvaziamento Gástrico.....	38
Pesagem cerebral e estudo histológico.....	42
Estudo estatístico.....	42
<b>4-RESULTADOS</b> .....	43
<b>5-DISCUSSÃO</b> .....	51
<b>6-CONCLUSÕES</b> .....	58
<b>7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	60
<b>8-ANEXOS</b> .....	70

## ***LISTA DE ABREVIATURAS***

---

ACE	artéria carótida esquerda
DRGE	doença do refluxo gastroesofágico
EIE	esfíncter inferior do esôfago
EG	esvaziamento gástrico
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
GI	gastrointestinal
g	gramas
HE	hematoxilina-eosina
Kg	kilogramas
LPS	lipopolissacárides
ugr	microgramas
ml	mililitros
PC	paralisia cerebral
RGE	refluxo gastroesofágico
SNC	sistema nervoso central
TGI	trato gastrointestinal

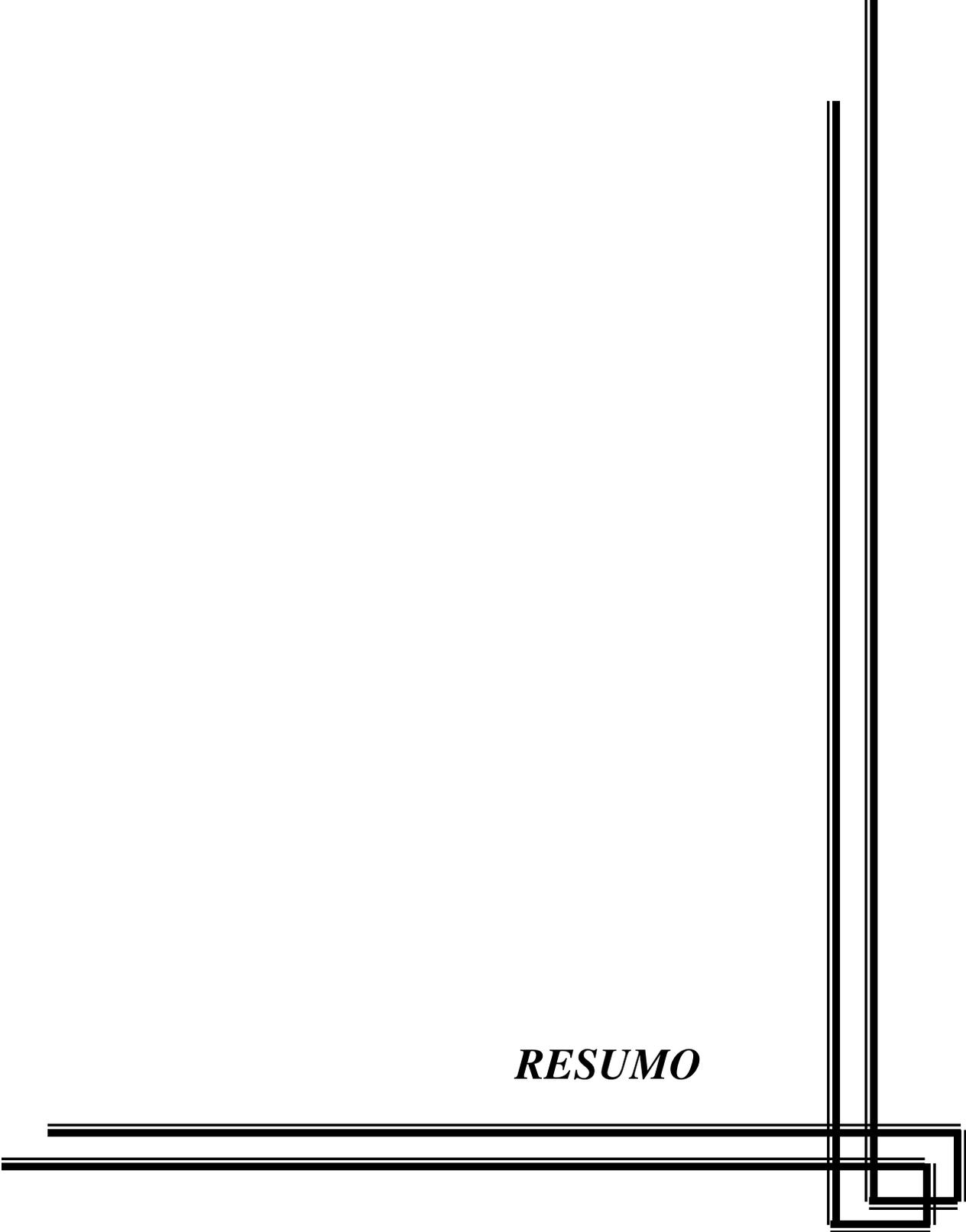
## LISTA DE FIGURAS

---

	<i>PÁG.</i>
<b>FIGURA 1-</b> Cervicotomia esquerda e isolamento da ACE.....	36
<b>FIGURA 2-</b> Ligadura da ACE.....	38
<b>FIGURA 3 e 4-</b> Mistura de Oxigênio à 8% e animal em campânula de vidro.....	37
<b>FIGURA 5-</b> Solução da refeição de prova e material de intubagem orogástrica.....	38
<b>FIGURA 6 e 7</b> Imobilização do animal e intubagem orogástrica.....	39
<b>FIGURA 8-</b> Laparotomia e pinçamento do piloro.....	40
<b>FIGURA 9-</b> Aspiração do conteúdo gástrico através de sonda orogástrica.....	41
<b>FIGURA 10-</b> Representação gráfica da média da Taxa de Retenção Gástrica (RG%) nos animais do Grupo Precoce submetidos a administração endovenosa de solução salina.....	44
<b>FIGURA 11-</b> Representação gráfica da média da Taxa de Retenção Gástrica (RG%) nos animais do Grupo Precoce submetidos a administração endovenosa de solução de LPS de <i>E. coli</i> .....	45
<b>FIGURA 12-</b> Representação gráfica da média da Taxa de Retenção Gástrica (RG%) nos animais do Grupo Tardio submetidos a administração endovenosa de solução salina.....	46
<b>FIGURA 13-</b> Representação gráfica da média da Taxa de Retenção Gástrica (RG%) nos animais do Grupo Tardio submetidos a administração endovenosa de solução de Lps de <i>E. coli</i> .....	46
<b>FIGURA 14-</b> Representação gráfica da média do peso cerebral/ 100g do animal dos animais do Grupo Precoce.....	47

<b>FIGURA 15-</b>	Representação gráfica da média do peso cerebral/ 100g do animal dos animais do Grupo Tardio .Observado redução do peso cerebral dos animais do subgrupo Tardio-Experimento-LPS (TLS).....	48
<b>FIGURA 16-</b>	Corte histológico do córtex cerebral de um animal do Grupo Precoce submetido à lesão neurológica hipóxico-isquêmica. Coloração H.E.....	49
<b>FIGURA 17-</b>	Corte histológico do córtex cerebral de um animal do Grupo Tardio submetido à lesão neurológica hipóxico-isquêmica. Coloração H.E. ....	49
<b>FIGURA 18-</b>	Corte histológico de uma lamínula cerebelar de um animal do Grupo Precoce submetido à lesão neurológica hipóxico-isquêmica. Coloração H.E. ....	50

*RESUMO*



A associação de alterações da motilidade gastrointestinal e crianças neuropatas tem sido relatada com frequência nas últimas duas décadas. Isto se deve a dificuldade de alimentação que estas crianças apresentam, associada ao grau severo de desnutrição, vômitos recorrentes e pneumonias de repetição. Por muito tempo, acreditou-se que estas complicações fossem decorrentes do refluxo gastroesofágico, muito comum nestes pacientes. Porém, o tratamento clínico ou cirúrgico destes pacientes apresenta resultados insatisfatórios em relação às crianças neurologicamente normais, com um alto índice de complicações e recorrência dos sintomas no pós operatório em até 50% dos casos. Na tentativa de buscar explicações para estes resultados, vários cirurgiões pediátricos, pediatras e gastropediatras iniciaram estudos para avaliação da motilidade esofágica, gástrica e intestinal, para compreender qual ou quais fatores adicionais estariam envolvidos no quadro clínico destas crianças neuropatas com vômitos recorrentes, desnutrição e pneumonias de repetição.

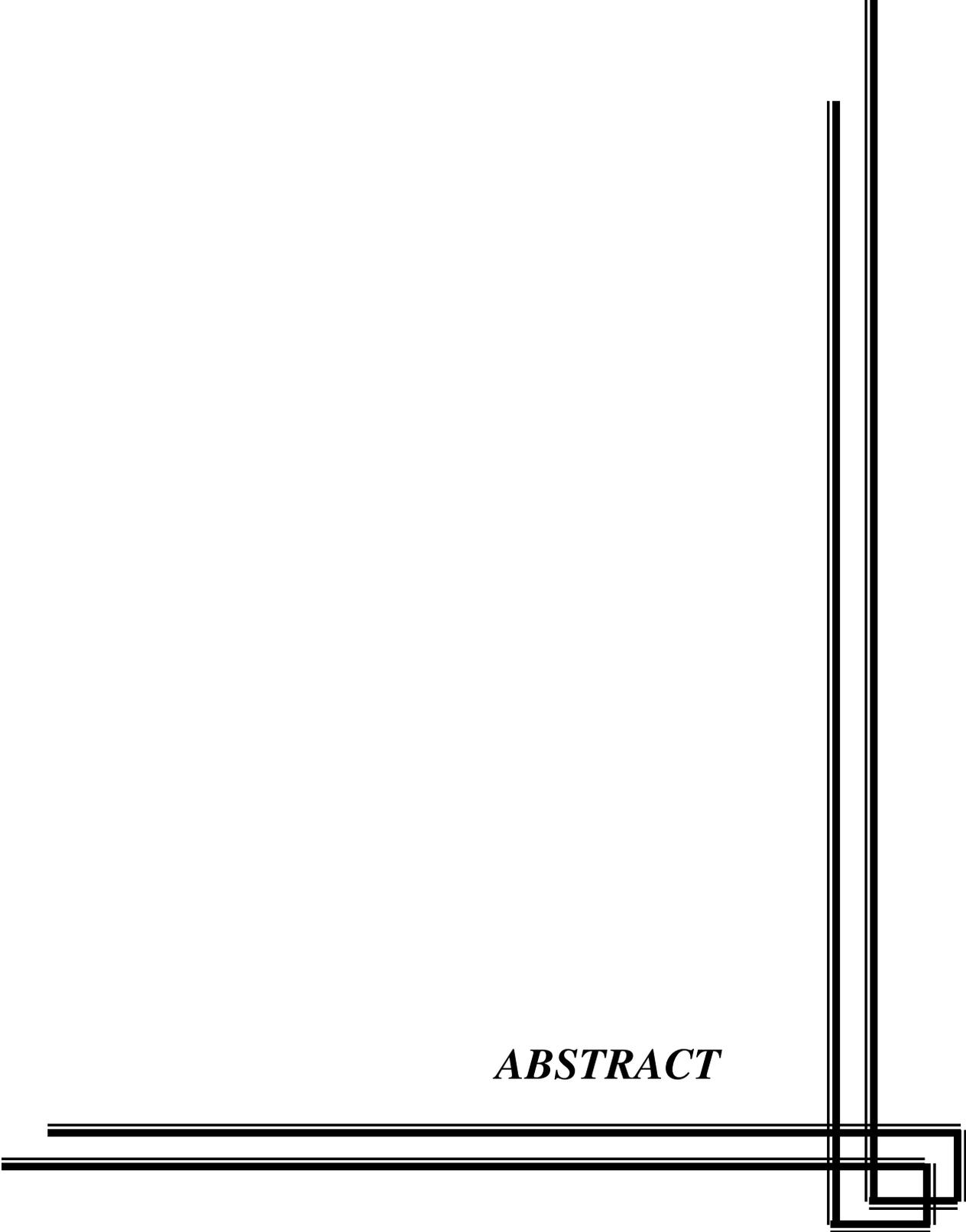
**Objetivos:** avaliar o efeito da lesão neurológica hipóxico-isquêmica no esvaziamento gástrico de líquidos em ratos.

**Método:** foram utilizados cento e treze ratos Wistar machos, com seis semanas de idade, pesando entre 100 a 150 gramas, provenientes do Biotério Central da Unicamp. Os animais foram submetidos a um período de adaptação, com água e ração ad libitum e ciclo artificial claro escuro. Os animais foram separados em dois grandes grupos: precoce e tardio para estudo do esvaziamento gástrico, no 3º e 14 dias após a lesão neurológica. Estes dois grupos foram subdivididos aleatoriamente em três subgrupos: CONTROLE (animais saudáveis), SHAM (animais submetidos à cirurgia simulada) e EXPERIMENTO (animais submetidos à lesão neurológica hipóxico-isquêmica). Os animais do subgrupo EXPERIMENTO foram submetidos à cervicotomia esquerda e ligadura da artéria carótida esquerda e após, recuperação anestésica, foram colocados em ambiente restrito com oxigênio a 8%, segundo modelo experimental de Rice. O estudo do esvaziamento gástrico foi indiretamente avaliado pela determinação da porcentagem de retenção gástrica de fenolsulfaleína presente na refeição de prova recuperada do estômago do animal.

**Resultados e conclusões:** após a operação e o período de hipóxia, todos os animais (EXPERIMENTO) apresentavam ptose palpebral esquerda; seis animais com discreta lateralização da marcha; quatro animais morreram, durante a hipóxia; e três apresentaram

convulsões após término da mesma. Os animais que apresentaram convulsões foram sacrificados e excluídos do trabalho. Os valores encontrados na determinação da retenção gástrica foram semelhantes entre os animais dos diferentes subgrupos, tanto no período precoce como na avaliação tardia. A administração endovenosa de solução de lipopolissacárides de *Escherichia coli* provocou retardo do EG de forma semelhante em todos os animais. A média do peso cerebral dos animais mostrou diferença estatisticamente significativa nos animais do grupo tardio, com redução do peso cerebral, e sugerindo atrofia cerebral. O estudo histológico do cérebro dos animais submetidos à lesão neurológica mostrou alterações neuronais difusas em córtex, hipocampo e núcleos da base. Embora não tenhamos observado alterações do EG nos animais submetidos à lesão neurológica neste estudo, muitas dúvidas persistem. A compreensão do efeito das lesões hipóxico-isquêmicas sobre o trato gastrointestinal é de fundamental importância para o tratamento da criança neuropata.

*ABSTRACT*



The association between gastrointestinal disorders and cerebral palsy has been frequently reported in the last two decades. This is due to the fact that these children show feeding difficulties, which are associated with a severe malnutrition, vomiting and recurrent respiratory infections.

It was believed, for a long time, that these complications were consequences of the gastroesophageal reflux, which is very common in these patients. However, the clinical or surgical treatment would present unsatisfactory results when compared to neurologically normal children and along with a high level of complications of up to 50% of the cases. In the attempt to find explanations for those results, many pediatricians, surgeons and gastroenterologists started studies to examine the gastrointestinal motility in order to understand which additional factor or factors would be involved within the clinical state of those neurologically impaired children with repetitive pneumonia, recurrent vomiting and malnutrition.

**Objective:** evaluation of the effect of the hypoxic-ischemic neurological damage over the gastric emptying of liquids in rats.

**Method:** One hundred and thirteen Wistar rats have been used for the testing, being them all six weeks old males, weighing 100 and 150 grs. The animals went through an adaptation period with water and food ad libitum, and an artificial light/dark cycle.

The animals were divided in two big groups, precocious and late, for the study of the gastric emptying on the 3 and 14 day after neurological damage. These two groups were randomly subdivided into three other groups: CONTROL (healthy animals), SHAM (animals that undergo simulated surgery) and EXPERIMENT (animals that undergo hypoxic-ischemic neurological damage). The animals from the EXPERIMENT subgroup had to perform the left cervicotomy with binding of the left carotid artery and after recovering from anesthetics, they were exposed to 8% oxygen, following Rice experimental model.

The study of gastric emptying was indirectly examined through the percentage of gastric retention of fenolsulfthalein that was present on the animal's stomach.

**Results and Conclusions:** After the surgery and the hypoxic period, the animals (EXPERIMENT) were showing left eyelid ptosis, six animals with minor sideway gait, four

animals died during hypoxic period and three were convulsive just after it. These animals were sacrificed and dismissed.

The values found on the determination of the gastric retention were similar among the animals from the animals from the different subgroups, not only in the early period, but also in the late evaluation. The endovenous administration of lipopolyssacarides solution of *Escherichia coli*, led to a delay in the gastric empty in similar lines among the animals. The average brain weight has shown a statistically important difference for the late group of animals that suggests brain atrophy. The brain tissue study of the animals with neurological damage has shown neurological alterations through the cortex, hippocampus and base nucleus. Although gastric empty differences were not found in animals that undergo neurological damage in this study, the doubt still remains. The understanding of hypoxic-ischemic damage effects on the gastrointestinal tract is of the capital relevance for the treatment of neurologically impaired children.

## *1- INTRODUÇÃO*

A prevalência de paralisia cerebral (PC) é de aproximadamente 2 por 1000 nascidos vivos. A PC refere-se a pacientes com déficit motor, acompanhado de movimentos semelhantes a convulsões e dificuldades de aprendizado. Além de vários problemas neuropsiquiátricos associados, a maioria dessas crianças apresentam uma variedade de manifestações gastrointestinais que nem sempre recebem atenção apropriada pelos pediatras e clínicos. Apresentam dificuldade de alimentação oral, alteração da deglutição, salivação excessiva, disfunção faringoesofágica, retardo do esvaziamento gástrico (EG), refluxo gastroesofágico (RGE) e constipação intestinal (PAPAILA et al.,1989; ROSENBLOOM,1995; DEL GIUDICE et al.,1999; SULLIVAN,1997).

O desenvolvimento tecnológico das Unidades de Terapia Intensiva Neonatal e Pediátrica, assim como, o aprimoramento do conhecimento dos pacientes neuropatas pelos diversos profissionais (médicos, enfermeiros, fisioterapeutas, nutricionista, fonoaudiólogos, entre outros) fazem com que estes pacientes apresentem uma sobrevida maior e exijam uma série de cuidados alimentares, higiênicos e posturais (KUBAN & LEVITON,1994; ROSENBLOOM,1995; REILLY et al.,1996; SULLIVAN,1997).

Estudos recentes demonstram que sintomas digestivos podem ocorrer em até 90 % de crianças com paralisia cerebral (DEL GIUDICE,1999). Entre eles regurgitação ou vômitos recorrentes aparecem em 10-30% (50%) dos casos e podem resultar em morbidade significativa devido à anemia, malnutrição e pneumonia aspirativa. Esofagite documentada por endoscopia ocorre em 50% dos pacientes e sangramento gastrointestinal em 20-70% dos casos (RAVELLI,1997). Distúrbios de deglutição, secundários aos movimentos incoordenados da língua ou disfunção faríngea, são comuns nestas crianças (REILLY et al., 1996).

Existem evidências que em grande parte destas crianças os vômitos são secundários ao RGE. A associação entre RGE e paralisia cerebral foi descrita primariamente por ABRAHAMS e BURKIT em 1970. PEARL et al.(1990) observaram, em estudo retrospectivo, que 50% das crianças que apresentavam lesão neurológica secundária a hipóxia apresentavam RGE severo associado à presença de hérnia de hiato e pneumonias aspirativas recorrentes. BÖHEMER (1999), em estudo randomizado, observou que o risco de doença do RGE aproximadamente dobrava em presença de encefalopatia

hipóxico-isquêmica e triplicava em presença de crises convulsivantes e QI menor que 35. Os estudos de SPITZ et al., em 1993, mostraram que estas crianças ao serem investigadas cerca de 75% apresentam RGE com a presença ou não de hérnia de hiato. Explicações para esta associação incluem posição horizontal prolongada, aumento da pressão abdominal decorrente da escoliose ou espasticidade, fragilidade do músculo diafragmático, deglutição incoordenada e possíveis efeitos adversos da disfunção do sistema nervoso central (SNC) sobre o controle do esfíncter inferior do esôfago (EIE) e da motilidade gastrointestinal. (SONDHEMEIER et al.,1979; HALPERN et al.,1991; RICE et al.,1991; SPITZ et al.,1993).

No entanto, o RGE não é a única manifestação de dismotilidade intestinal em pacientes com retardo psicomotor e vômitos. Em estudos, como o de RAVELLI e MILLA (1998), foi observada a presença de vários tipos de disritmias gástricas (atividade elétrica lenta, rápida ou desorganizada) em pacientes com doenças neurológicas e vômitos recorrentes sugerindo que possa existir uma alteração de motilidade gastrointestinal(GI) global nestes pacientes. Estes dados sugerem que o RGE não seja a única causa dos vômitos e de manifestações gastrointestinais e pulmonares recorrentes nestes pacientes. NEUHAUSER e BERENBERG (1947) e GROSS (1953) observaram que em crianças com retardo mental severo existe alta incidência de neuropatia autonômica com trânsito esofagogástrico e esvaziamento gástrico(EG) retardados e que nestas crianças ocorre alta incidência de falência no tratamento conservador do RGE.

Em 1989, PAPAILLA et al. realizaram um estudo prospectivo em 99 crianças com DRGE com indicação cirúrgica. Todos os pacientes foram submetidos a estudo do EG através da administração oral do tecnésio 99 (Tc 99). Os autores observaram que 75% dos pacientes com retarde do EG apresentavam dano neurológico (anóxia cerebral, paralisia cerebral, hidrocefalia). Resultados semelhantes foram encontrados por HILLEMMEIER et al. (1983), sugerindo uma significativa relação entre retardo EG, severidade da DRGE e doença neurológica. MARTINEZ et al. (1992 a/b) observaram a recorrência dos sintomas da DRGE em crianças neuropatas após correção cirúrgica em 71% dos casos, sugerindo uma disfunção motora do aparelho digestivo destas crianças o que explicaria estes resultados desfavoráveis. Estudos como de MADERN et al. (1985) e CUNNINGHAM et al.(1991), também observaram o retarde do EG e alterações da motilidade esofágica e

gastrointestinal como os responsáveis pelas complicações pós funduplicaturas, o qual provocaria uma maior tensão sob a cirurgia e conseqüentemente, deiscência da sutura e/ou herniação da válvula antirefluxo. Esta alta incidência de falência do tratamento clínico ou cirúrgico do RGE em crianças neuropatas quando comparada com crianças neurologicamente normais, sugere que talvez a abordagem terapêutica utilizada não seja a mais apropriada.

Especificamente em pacientes neuropatas, a idade parece não fazer diferença quanto à incidência ou à melhora da DRGE e os distúrbios de deglutição. Isto sugere que os mecanismos de maturação normal, que são responsáveis pela melhora clínica dos sintomas e até desaparecimento da DRGE em crianças neurologicamente normais, não têm capacidade de resolver a doença nestes pacientes. Tem sido fortemente relacionada a maior incidência da doença em portadores de encefalopatia hipóxico-isquêmica, escoliose e lesões cerebrais mais severas (a incidência da DRGE inversamente proporcional ao QI da criança).

Embora em crianças neurologicamente normais, os mecanismos de RGE tenham sido bastante estudados, o mesmo não é verdade em relação aos pacientes neuropatas. Isto se deve a dificuldade de avaliar estas crianças tanto na representação de um espectro da doença neurológica como na documentação apropriada do RGE e das alterações da motilidade esofagogastrointestinal. Logo, o conhecimento das alterações fisiológicas da barreira anti-refluxo secundárias às lesões neurológicas centrais pode auxiliar na compreensão dos mecanismos que levam à alta incidência de vômitos recorrentes e RGE, e suas complicações, nestes pacientes.

Existem evidências significativas que o SNC pode influenciar na motilidade e função esofágica, gástrica e intestinal (CORAZZIANI,1997). STAIANO et al.(1991) em estudo prospectivo, demonstrou alterações da motilidade esofágica e do clearance esofágico em crianças neuropatas e que estas alterações se agravam com a severidade da lesão neurológica. Em 1999, HEIKENEN et al. avaliaram a atividade gástrica mioelétrica através da eletrogastrografia em crianças abaixo de 10 anos e com gastrostomia por dificuldade de alimentação oral, e observaram que as alterações da motilidade gástrica ocorreram mais freqüentemente em crianças com danos neurológicos. Em estudo

experimental em gatos, VANE et al. (1982) demonstraram que o aumento da pressão intracraniana causa redução significativa da pressão do EIE. Em 1999, KACKER et al., demonstraram as alterações do EG em ratos com hipertensão intracraniana e o efeito de várias drogas sobre o mesmo. Outro estudo em gatos, demonstrou o controle do SNC na motilidade do esôfago distal durante a deglutição (JEAN, 1984).

A suposição de que lesões do núcleo vagal causadas por isquemia cerebral podem ser responsáveis por distúrbios irreversíveis dos mecanismos de coordenação do trato digestivo é extremamente atraente como hipótese fisiopatológica. Estas lesões explicariam a maior incidência de RGE e alterações gastrointestinais em crianças portadoras de encefalopatia hipóxico-isquêmica, assim como a ausência de melhora do quadro clínico associado ao crescimento e maturação da criança. A associação entre a gravidade da DRGE e a maior severidade das lesões neurológicas foi relatada por vários autores (SONDHEIMER et al., 1979; RAVELLI & MILLA, 1998; JESUS, 2002), fortalecendo a teoria da lesão neurológica central como principal responsável das alterações TGI.

CUNNINGHAM em 1991, relatou a presença de disfunção motora esofagogástrica e alterações generalizadas da motilidade gastrointestinal em pacientes com doença do RGE. Embora desconhecesse a causa desta motilidade GI alterada, havia evidências de disfunção neural. O nervo vago tem a maior influência na peristalse esofágica, na função do EIE, e motilidade gástrica. Sendo assim, anormalidades na função vagal contribuem para o aparecimento dos vômitos e do RGE. Foi observado neste estudo que 40% dos pacientes com doença do RGE apresentavam reflexo parassimpático cardiovascular alterado. Inicialmente, o estudo de CUNNINGHAM demonstrou a relação entre neuropatia vagal e retardo da motilidade esofágica, porém não encontrou correlação entre retardo do EG e alteração do SNC autonômico. Portanto, em seu estudo, permaneceu a incerteza da importância do EG na patogênese do RGE.

A incoordenação funcional do TGI pode ser responsabilizada também por alterações do EG, muito freqüente nas crianças neuropatas. Estas alterações são potencialmente capazes de provocar vômitos, regurgitação e RGE por aumento da pressão intragástrica, distensão gástrica crônica e peristalse reversa. Embora existam dados

comprovadores desta disfunção (SONDHEMEIER et al.; 1979; BROWN et al.,1994; ALEXANDER et al.,1997; JESUS,2002), as implicações deste distúrbio como causas das manifestações gastrointestinais – vômitos, RGE, engasgos e ruminação - não estão bem estabelecidas. Os dados relativos à disfunção gástrica têm sido referidos muito mais à recorrência dos sintomas no pós-operatório das funduplicaturas. HEIKENEM et al. (1999) realizaram eletrogastrografia em crianças com gastrostomia que apresentavam intolerância ou incapacidade de alimentação via oral e observaram que, crianças com maior severidade de dano neurológico apresentavam baixa porcentagem de normogastria. MIKI et al., em 1998, avaliaram motilidade antroduodenal, RGE e pressão do EIE em 11 pacientes neuropatas com sintomas de vômitos, hematêmese ou distensão abdominal. Todos os pacientes apresentavam algum tipo de anormalidade motora antroduodenal como incoordenação ou hipomotilidade da fase antral e/ou contração tônica duodenal prolongada.

Além disso, a presença de convulsões e constipação intestinal também podem contribuir para a presença de vômitos e RGE (ALEXANDER et al,1997; RAVELLI,1997; SULLIVAN,1997 ) e, também, o uso de drogas anticonvulsivantes e benzodiazepínicos pode acarretar em alterações da motilidade gastrointestinal ( MAXSON et al.,1994; MIKI et al.,1998).

Estes dados sugerem que, em pelo menos parte dos pacientes neuropatas, existe uma complexa alteração de motilidade intestinal que pode ser primária ou ainda associada ao uso de medicações. O conhecimento da fisiopatologia destas alterações é indispensável para uma abordagem diagnóstica e terapêutica dos problemas digestivos neste grupo de crianças.

### ***O Esvaziamento Gástrico***

O EG é definido como o processo de transferência do alimento ingerido para o duodeno. É a expressão da função motora primordial do estômago após receber, armazenar, fracionar e misturar o alimento com as secreções gástricas. A velocidade com que esta transferência ocorre é intimamente relacionada à capacidade absorptiva do intestino e encontra-se sob múltiplos controles locais e sistêmicos. Assim, mecanismos miogênicos,

neurogênicos e hormonais constituem os principais reguladores da função motora gástrica e a constituição da dieta representa o principal modulador do EG (WEISBRODT,1984).

Do ponto de vista anatômico, o estômago pode ser dividido em fundo, corpo e antro; e comporta-se como um reservatório temporário de alimentos e como órgão de trituração de alimentos sólidos, misturando-o com as secreções salivar e gástrica e transferindo-o, de forma, ordenada para o duodeno (COOKE,1975 ). Funcionalmente, pode-se dividi-lo em duas áreas motoras distintas que se interagem. Uma proximal constituída do fundo gástrico e terço cranial do corpo e a porção distal composta pelos dois terços distais do corpo e antro (EHRLEIN & AKKERMANS,1984 ; COLLARES, 1996).

As características funcionais distintas das células musculares do estômago proximal e distal determinam as principais funções destas regiões. A porção proximal recebe e estoca os alimentos, sem grandes aumentos de pressão, por intermédio dos chamados relaxamento receptivo e adaptativo (EHRLEIN & AKKERMANS,1984 ; WEISBRODT,1984). Após a deglutição, há uma fase relaxamento que transforma o estômago em um reservatório alimentar. A seguir, suas contrações tônicas elevam a pressão intra-gástrica, criando um gradiente pressórico direcionando o alimento para a porção distal e promovendo notadamente o esvaziamento gástrico de líquidos (CUELLEN & KELLY,1993). A porção distal apresenta intensa atividade mioelétrica cíclica, promovendo as funções seqüenciais de propulsão, trituração e retropulsão e desempenha importante papel na digestão e EG de sólidos (CUELLEN & KELLY, 1993; EAGON et al.,1993).

O EG de líquidos, parece ocorrer principalmente em função de um gradiente pressórico entre estômago e duodeno (STRUNTZ & GROSSMAN, 1978). A pressão intragástrica é gerada principalmente por contrações originadas do fundo gástrico. Existem dois tipos de contrações: as contrações tônicas, lentas responsáveis pela pressão basal do estômago e as contrações fásicas , rápidas (MINAMI & McCALLUM, 1984). Além disso, o estômago tem capacidade de diminuir a pressão intragástrica durante a deglutição – reflexo de relaxamento receptivo; e de acomodar volumes crescentes de alimentos sem o aumento significativo da pressão – reflexo de acomodação. Ambos os reflexos, parecem ser mediados por neurônios inibitórios vagais não-colinérgicos, não-adrenérgicos e parcialmente dopaminérgicos (MINAMI & McCALLUM, 1984). Estudos experimentais

demonstraram que a vagotomia gástrica proximal ou a ressecção do fundo gástrico promove o aumento do esvaziamento gástrico para líquidos. Por outro lado, hormônios como a colecistoquinina e a gastrina promovem o retardo do EG de líquidos (WILBUR & KELLY,1974).

O EG de sólidos é mais complexo, uma vez que o alimento deve ser reduzido a fragmentos menores de 2mm para serem esvaziados. Através de um marca-passo gástrico, o estômago distal gera ondas lentas e cíclicas que se superpõem a potenciais de ação, promovendo o aparecimento de ondas peristálticas que se propagam distalmente. Ao atingirem o antro gástrico, ocorre o fechamento da sua porção terminal e do piloro que provoca o retorno do alimento para a porção proximal do antro onde serão novamente triturados e misturados às secreções gástricas. O ciclo se repete periodicamente até os fragmentos sólidos atingirem um tamanho que lhes permita atravessar o piloro (CARLSON; CODE & NELSON,1966).

A atividade elétrica do estômago distal é controlada por mecanismos neurais e hormonais. Os mecanismos neurais incluem vias vagais e simpáticas. Embora vários hormônios possam influenciar as contrações do estômago distal, a gastrina parece ser o único capaz de aumentar a atividade do marca-passo gástrico e facilitar a geração de potenciais de ação ( MORGAN et al., 1978; STRUNTZ & GROSSMAN, 1978).

Classicamente, é conhecido que o EG de líquidos é função da atividade motora do estômago proximal, enquanto o EG de sólidos relaciona-se principalmente ao estômago distal( KELLY,1980). Entretanto, mais recentemente, sabe-se que ambas as porções gástricas participam do EG de líquidos e sólidos (EHRLEIN & AKKERMANS,1984; COLLINS et al.,1991; HOROWITZ et al.,1994; SCHWIZER et al.,1996). Há relato da existência de uma área de atividade reduzida (banda de contração), que seria responsável por uma retenção de sólidos no fundo gástrico, enquanto os líquidos a ultrapassariam , distribuindo-se por todo o estômago (COLLINS et al.,1988 e 1991).

O fluxo alimentar através do piloro é pulsátil, intermitente e dependente das contrações antrais, do tônus do estômago proximal, resistência pilórica e da função motora duodenal que recebe o quimo ( EHRLEIN & AKKERMANS,1984; WEISBRODT, 1984; BURKS et al.,1985; WINGATE et al.,1994). Normalmente, as contrações antrais são

seguidas por contrações duodenais, iniciadas logo após o fechamento do piloro, que clareiam o conteúdo duodenal. Desta forma, contrações duodenais não propulsoras podem impor resistência mecânica ao EG ( WINGATE et al.,1994).

Como mencionado anteriormente, o EG é dependente da diferença entre a pressão intragástrica e a duodenal que permite ultrapassar a resistência ao fluxo através do piloro e apresenta padrões distintos dependentes do estado físico, osmolalidade, constituição química, densidade calórica e digestibilidade da refeição. A diferença nas taxas de esvaziamento gástrico de acordo com o tipo de alimento é notória. Líquidos e carboidratos chegam mais rapidamente ao duodeno que sólidos, proteínas e gorduras. Entretanto, refeições de mesma densidade calórica apresentam EG semelhante independente da sua composição (COLLINS et al,1991; CULLEN & KELLY, 1993).

O esvaziamento de líquidos não nutritivos e isotônicos é muito mais rápido que o dos sólidos, num padrão não linear, tendendo a exponencial, na maioria dos casos (HOROWITZ et al.,1994). O EG de sólidos digeríveis segue um padrão linear, após uma fase de latência. O conteúdo luminal de sólidos somente atravessa o piloro, quando partículas atingem tamanhos inferiores a 1-2 mm de diâmetro (MEYER, 1980), permanecendo em suspensão e esvaziadas concomitante com a fase líquida do conteúdo gástrico. As partículas sólidas, não digeríveis, maiores que 5mm atravessam o piloro durante os períodos interdigestivos.

A solução salina representa uma refeição líquida isotônica e não nutritiva e, portanto apresenta padrão de esvaziamento exponencial e o volume é um importante agente de facilitação do esvaziamento. Já para líquidos nutritivos e hiperosmolares, os moduladores do esvaziamento são a osmolalidade, o conteúdo calórico e a viscosidade. Acredita-se que o EG de refeições líquidas está relacionada ao seu conteúdo calórico (kcal/ml) (HUNT et al, 1985). Tal mecanismo é mediado por receptores situados no duodeno, sensíveis aos efeitos osmóticos da refeição ou à afinidade pelo cálcio dos produtos de digestão das proteínas e gorduras, modificando o fluxo de água no espaço intercelular. A redução do espaço intercelular é o fator que desencadearia o retardo do EG (HUNT,1983; HUNT et al., 1985).

Sabe-se que a distensão gástrica, por sua vez, é um dos fatores que desencadeia o relaxamento transitório e completo do EIE, aumentando assim a incidência de RGE e, conseqüentemente, a exposição maior da mucosa esofágica ao conteúdo gástrico. Os distúrbios da motilidade gástrica acarretam alterações da distensão e do EG (McCALLUM, 1990). O RGE ocorre mais freqüentemente após a ingestão de alimentos (período pós prandial) e está na dependência de vários fatores como: volume da refeição e da saliva ingerida, volume das secreções gástricas, refluxo duodenogástrico e EG. A retenção gástrica com acúmulo de ácido e de seu conteúdo pode ser considerada como um fator contribuidor do RGE.

McCAULLAM et al.(1990) relataram o retardo do EG de sólidos em vários pacientes portadores de RGE. BEHAR & RAMSEY, em 1978, encontraram alteração da motilidade antral, com EG normal para líquidos em pacientes com RGE. Outro estudo, como de FONKALSRUD et al.,1989 mostraram atraso do esvaziamento gástrico tanto para sólidos como para líquidos em 49% das crianças com RGE e indicação cirúrgica. Esta alta incidência pode estar relacionada ao fato de que 39% destes pacientes apresentavam alterações do SNC. Em estudo de crianças com RGE severo ( falência do desenvolvimento ou aspiração pulmonar) observou-se retenção gástrica para líquidos (PAPAILA et al.,1989). O RGE em crianças parece ser uma entidade patológica distinta, possivelmente envolvendo dismotilidade esofágica e/ou gástrica (HILLEMEIER et al., 1983; JOLLEY et al., 1987; SPITZ et al.,1993).

O EG pode ser alterado de forma transitória ou permanente em uma variedade de patologias (BUSTORFF-SILVA et al., 1999). Qualquer alteração anatômica da junção antropilórica pode causar retardo do EG , assim como, distúrbios metabólicos ou hidroeletrólíticos e algumas enfermidades. A retenção gástrica transitória tem sido descrita em pacientes com hipóxia, uremia, acidose metabólica, hipercalcemia, hipocalemia, hipomagnesemia, hipotireoidismo, hiperglicemia e no íleo paralítico no pós operatório. Por outro lado, enfermidades como diabetes mellitus, úlcera gástrica, doenças do tecido conjuntivo e refluxo gastroesofágico estão associadas a retardo EG permanente. As infecções agudas e intolerância alimentar podem provocar retardo do EG (JOLLEY et al.,1979; COLLARES,1997; CALATAYUD et al.,2001). Em pacientes com trauma

raquimedular e/ou craniano tem-se observado retardo do esvaziamento gástrico (KAO et al.,1998).

A utilização de várias drogas podem alterar o EG, como dipirona sódica, atropina. Situações de estresse como infecções agudas, trauma e cirurgias, também são responsáveis pelo retarde do EG. A administração endovenosa de solução de LPS de bactérias provoca, no trato gastrointestinal, lesão severa da mucosa intestinal acompanhada de diarreia e translocação bacteriana. Em doses subletais, a solução de LPS de *E. coli* suprime a motilidade gástrica e provoca significativa retarde do EG em ratos. As alterações da função gástrica estão intimamente relacionadas à via administração, dose e o tempo decorrente após administração (COLLARES, 1997; CALATAYUD et al., 2001). A utilização da solução de LPS de *E. coli* promove um quadro de infecção nos animais e, conseqüentemente, um retarde do EG.

Vários estudos existem na literatura avaliando o esvaziamento gástrico e sua relação com o aparecimento de vômitos recorrentes, RGE e complicações pós funduplicatura (JOLLEY et al.,1987; PEARL et al.,1990; MAXSON et al.,1994; ALEXANDER et al.,1997; BUSTORFF-SILVA et al.;1999), porém muitas dúvidas persistem.

O esvaziamento gástrico pode ser avaliado através da radiografia contrastada do esôfago-estômago e duodeno, pela cintilografia gástrica com tecnésio 99, tomografia com impedância elétrica, aspiração repetida do conteúdo gástrico, entre outros. Em animais estes estudos tornam-se difíceis, principalmente em nosso meio, pela ausência de aparelhos sofisticados nos laboratórios de Cirurgia Experimental. BELANGERO & COLLARES, em 1991, desenvolveram um método de avaliação do EG em animais, através da adição do marcador fenolsulfaleína na solução empregada como refeição de prova. Vários estudos foram realizados utilizando este método e demonstraram as alterações do EG em diferentes situações como pós operatório de funduplicaturas, pós transplante hepático, insuficiência renal crônica (BUSTTORFF-SILVA et al, 1995).

Devido às evidências as quais sugerem que alterações do esvaziamento gástrico podem alterar significamente a resposta ao tratamento do RGE, optou-se por avaliar e abordar o estudo deste parâmetro como passo inicial num projeto mais amplo de avaliação

de alterações de motilidade intestinal em um modelo animal de lesão cerebral hipóxico- isquêmica.

## ***2- OBJETIVO***

## **1-OBJETIVO GERAL**

Avaliar o esvaziamento gástrico de líquidos em ratos submetidos à lesão neurológica hipóxico-isquêmica.

## **2-OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Avaliar o esvaziamento gástrico de líquidos em ratos submetidos à lesão neurológica hipóxico-isquêmica nos períodos precoce (3 dias) e tardio (14 dias).

Avaliar o efeito da administração endovenosa da solução de lipopolissacárides de *Escherichia coli* sobre o esvaziamento gástrico de líquidos em ratos submetidos à lesão neurológica hipóxico-isquêmica.

### *3-MÉTODO*

## **Delineamento experimental**

O estudo constou de quatro etapas:

- 1 etapa: provocar lesão neurológica hipóxico-isquêmica nos animais
- 2 etapa: avaliação precoce do EG após três dias da lesão neurológica.
- 3 etapa: avaliação tardia do EG após quatorze dias da lesão neurológica.
- 4 etapa: avaliação do efeito da solução de lipopolissacárides (LPS) de *Escherichia coli* (*E. coli*) sobre o EG dos animais submetidos a lesão hipóxico-isquêmica.

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia da UNICAMP, sob o protocolo número 324-1.

## **2-ANIMAIS**

Foram utilizados cento e treze ratos Wistar, machos, com seis semanas de idade pesando entre 100 a 150 gramas, provenientes do Biotério Central da Unicamp. Os animais foram operados no Laboratório de Técnica Cirúrgica do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental e, depois, transferidos para o Laboratório de Investigação da Pediatria do mesmo Núcleo, onde foi realizado o estudo do EG.

Os animais foram separados em dois grandes grupos, precoce e tardio. Estes dois grupos foram subdivididos como descrito a seguir.

### **2.1-Grupo Precoce (P)**

Neste grupo foram utilizados 50 ratos, de 6 semanas de idade, e estudados 3 dias após a cirurgia.

- 2.1.1-Grupo Branco – Controle (PBC) n= 8** :estudo do EG em animais saudáveis, sendo administrado por via endovenosa 0.1 ml de solução fisiológica/100 g do peso do animal , 1 hora antes do início do estudo.

**2.1.2-Grupo Branco – LPS (PBL) n=8** :estudo do EG em animais sadios, aos quais foram administrado 50 ugr/kg do animal de solução de LPS de *E. coli*, 1 hora antes do início do estudo.

**2.1.3-Grupo Sham – Controle (PSC) n=8**: estudo do EG em animais submetidos a operação simulada, aos quais foram administrado por via endovenosa 0.1 ml de solução fisiológica/100 g do peso do animal, 1 hora antes do início do estudo.

**2.1.4-Grupo Sham – LPS (PSL) n=8** : estudo do EG em animais submetidos a operação simulada, aos quais foram administrado por via endovenosa 50 ugr/kg de peso do animal de solução de LPS de *E. coli*, 1 hora antes do início do estudo.

**2.1.5-Grupo Experimento – Controle (PEC) n=9**: estudo do EG em animais submetidos a lesão neurológica hipóxico-isquêmica, após a administração endovenosa de 0.1 ml de solução salina/100g de peso do animal.

**2.1.6-Grupo Experimento – LPS (PEL) n=9**: estudo do EG em animais submetidos a lesão hipóxico-isquêmica , após administração endovenosa de 50 ugr/kg de peso do animal de solução de LPS de *E. coli*, 1 hora antes do estudo.

A administração endovenosa, através de punção venosa caudal, de lipopolissacarídeos de *E. coli* em metade dos animais de cada grupo e solução salina nos animais restante teve a finalidade de promover uma situação de sensibilização do animal e observar as alterações no EG, principalmente nos animais submetidos a lesão neurológica. Foi utilizado a dose de 50 ugr/kg de peso do animal e administrado 1 hora antes do estudo do EG.

## **2.2-Grupo Tardio (T)**

Neste grupo foram utilizados 54 ratos, de 6 semanas de idade, e estudados 14 dias após a cirurgia.

**2.2.1-Grupo Branco - Controle (TBC) n=9**: estudo o EG em animais sadios, aos quais foram administrado via endovenosa 0.1 ml/100 g de peso do animal de solução salina, 1 hora antes do estudo.

**2.2.2-Grupo Branco – LPS (TBL) n=9):** estudo do EG em animais sadios, aos quais fora administrado por via endovenosa 50 ugr/kg de peso do animal de solução de LPS de *E. coli* , 1 hora antes do início do estudo.

**2.2.3-Grupo Sham – Controle (TSC) n=9:** estudo do EG em animais submetidos a operação simulada, aos quais foram administrado 0.1 ml/100 g de peso do animal de solução salina, 1 hora antes do início do estudo.

**2.2.4-Grupo Sham–LPS (TSL) n=9:** estudo do EG em animais submetidos a cirurgia simulada, aos quais fora administrado 50 ugr/kg de peso do animal de solução de LPS de *E. coli*, 1 hora antes do início do estudo.

**2.2.5-Grupo Experimento-Controle (TEC) n=9:** estudo do EG em animais submetidos a lesão hipóxico-isquêmica, aos quais foram administrado 0.1 ml de solução salina/100 g de peso do animal, 1 hora antes do início do estudo.

**2.2.6-Grupo Experimento-LPS (THL) n=9:** estudo do EG em animais submetidos a lesão hipóxico-isquêmica, aos quais foram administrado 50 ugr/kg de peso do animal de solução de LPS de *E. coli*, 1 hora antes do início do estudo.

### **3-TÉCNICA OPERATÓRIA**

#### **3.1-Anatomia**

A região cervical do rato apresenta em sua porção anterior músculos esterno-hióide, músculos esterno-cleido-mastoideo e músculos digástrico. A dissecação na região de encontro destes três grupos musculares, permite o acesso a artéria carótida , veia jugular interna e nervo frênico. O músculo omo-hióide localiza-se inferiormente ao m. esterno-hióide e lateralmente aos grandes vasos. As glândulas salivares, submandibular e parótida, encontram-se anterosuperiormente ao m. esterno-hióide e apresentam grande volume.

### **3.2-Preparo do Animal**

Após jejum de doze horas, recebendo água ad libitum, os animais foram pesados e separados randomicamente para cirurgia simulada, lesão neurológica hipóxico-isquêmica ou grupo branco.

Os animais foram anestesiados com pentoparbitál sódico 0,75mgr/100 gr de peso do animal, através da punção venosa caudal.

Após anestesia, foi realizada tricotomia na região cervical anterior.

### **3.3-Cervicotomia e Ligadura da Artéria Carótida Esquerda(ACE)**

Após antissepsia da região cervical com álcool iodado, realizado incisão longitudinal cervical à esquerda de 1.0 a 1.5 cm de extensão .

Divulsão do plano muscular, afastando o músculo esternocleidomastoideo lateralmente e músculo esternohióideo medialmente.

Identificado a artéria carótica esquerda e nervo frênico.

Dissecção cuidadosa entre ACE e nervo frênico, isolando-a totalmente (Figura 1).

Passagem de dois fios de algodão 4.0 envolvendo a ACE.

Ligadura dupla da ACE, impedindo o fluxo sanguíneo ( Figura 2 ).

Fechamento da pele com fio Nylon 5.0, sutura contínua com nó invertido.



**Figura 1-**Cervicotomia esquerda e isolamento da ACE.



**Figura 2-**Ligadura da artéria carótida esquerda .

### 3.4-Operação Simulada

Realizada cervicotomia esquerda e identificação da artéria carótida esquerda (ACE), sem manipulação da mesma. Fechamento da cervicotomia com fio Nylon 4.0, sutura contínua com nó invertido.

### 3.5-Pós Operatório e Hipóxia

Após recuperação anestésica de três horas, os animais do grupo experimento (lesão neurológica) foram colocados em ambiente restrito – campânula de vidro, e expostos a mistura gasosa umidificada de Oxigênio a 8%, balanceada com nitrogênio, por 3 horas e fluxo de 5 a 6 litros por minuto, segundo modelo experimental descrito por RICE (1981). Ver figuras 3 e 4.



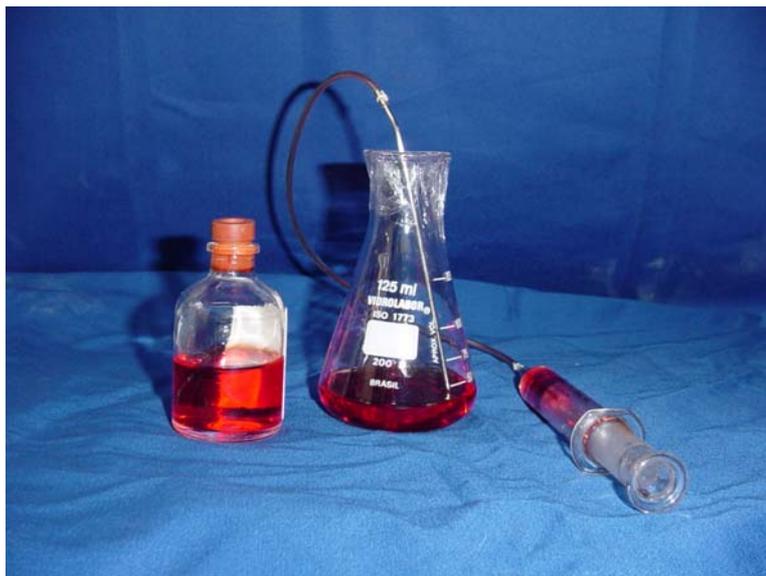
**Figuras 3 e 4-**Mistura de Oxigênio à 8% e animal em campânula de vidro.

Os animais submetidos à operação simulada foram colocados em ambiente restrito, semelhante ao anterior, porém em contato com ar ambiente, por 3 horas.

Em seguida, os animais dos dois grupos foram colocados em gaiolas coletivas com ração e água ad libitum.

#### **4-REFEIÇÃO DE PROVA**

A refeição de prova utilizada para avaliação do EG nos grupos precoce e tardio foi uma solução de NaCl 0,9% contendo o marcador fenolsulfaleína na concentração de 6mg/100ml. A osmolalidade da solução foi de 303 mOsm/kg ( Figura 5).



**Figura 5-**Solução de prova e material de intubagem orogástrica.

#### **5-ESTUDO DO ESVAZIAMENTO GÁSTRICO**

O estudo do esvaziamento gástrico foi realizado segundo o método desenvolvido por BELLANGERO & COLLARES (1991).

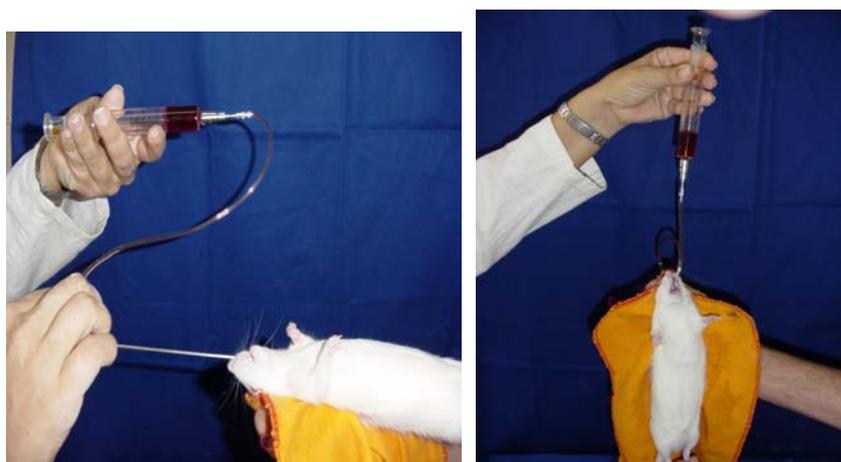
##### **5.1-Preparo do Animal**

O procedimento foi realizado após jejum alimentar de 22 horas, com os animais recebendo água ad libitum. A partir do início do procedimento a ingestão hídrica foi suspensa.

## 5.2-Técnica de Intubagem Orogástrica

As soluções foram infundidas através de sonda orogástrica, que consiste de uma haste de metal provida de luz central e com oliva multiperfurada na extremidade distal.

O animal foi imobilizado por um auxiliar, em decúbito dorsal horizontal, através da fixação da região interauricular, das patas traseiras e cauda, mantendo cabeça e corpo alinhados ( Figura 6). A sonda foi introduzida até o estômago, indicado pela rápida queda de resistência à passagem do cárdia. A refeição de prova ( cloreto de sódio 0,9% em solução aquosa contendo 6mg/100ml de vermelho fenol como marcador – Volume A) foi infundida por gravidade em aproximadamente 10 segundos, com o animal em posição vertical ( Figura 7) . O volume da refeição de prova infundido foi de 2 ml/100g do peso do animal.

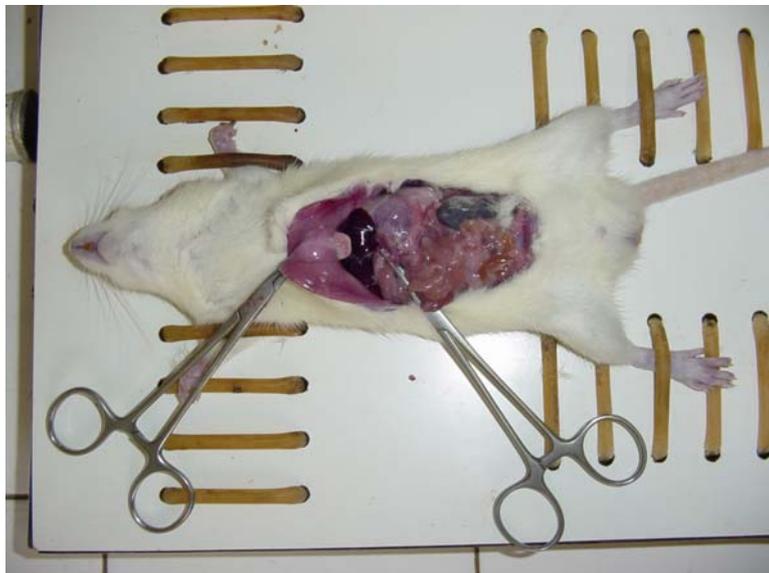


**Figuras 6 e 7-**Imobilização do animal, intubagem orogástrica. e infusão da refeição de prova.

## 5.3-Prova do Esvaziamento Gástrico

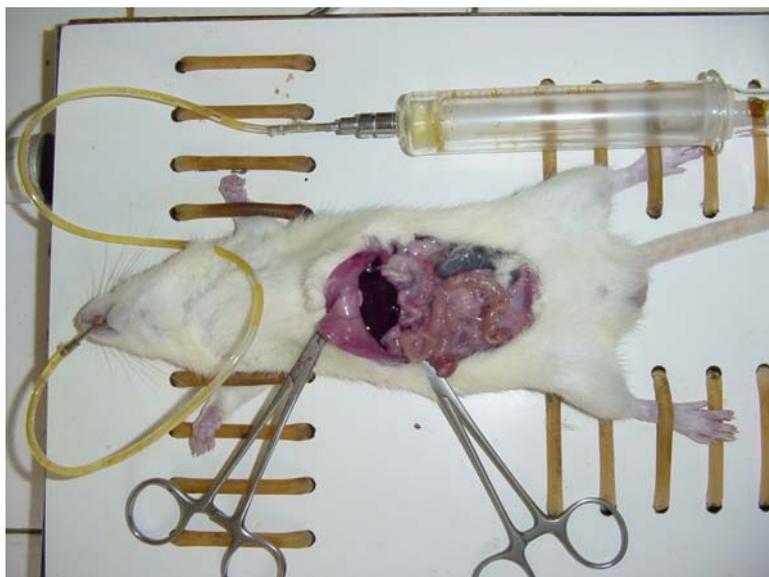
Após a administração da refeição de prova. A sonda foi retirada e o animal retornou a gaiola onde permaneceu por 8 minutos e 30 segundos. Neste momento o animal foi colocado em campânula com éter etílico, por 60 segundos. Em seguida o animal foi retirado da campânula e realizada a abertura do abdome no sentido longitudinal e

clampeamento do piloro com pinça hemostática aos 10 minutos após o fim da infusão orogástrica ( Figura 8). Todas as etapas foram cronometradas.



**Figura 8-**Laparotomia e pinçamento do piloro.

O resíduo gástrico foi aspirado, com o animal anestesiado com inalação de éter com um funil, através da recolocação da sonda oro gástrica (Figura 9) . A seguir, foram feitas quatro lavagens com 2 ml de água destilada, tomando o cuidado de sempre aspirar com a mesma seringa. Através da visualização direta do estômago, confirmamos seu total esvaziamento. A sonda foi retirada sob visualização direta e o animal encaminhado para perfusão cerebral com formalina tamponada.



**Figura 9-**Aspiração do conteúdo gástrico através da sonda orogástrica.

O volume obtido, resíduo gástrico mais lavagens, foi transferido para uma proveta graduada de 25ml e os instrumentos de aspiração (sonda e seringa) foram lavados três vezes com 1ml de água destilada e o volume acrescentado ao volume da proveta. O volume total obtido foi anotado (Volume Resíduo Gástrico).

#### **5.4-Determinação da Retenção Gástrica**

A determinação da retenção gástrica (RG) foi realizada pela técnica descrita por GUPTA e BRANS (1978). Foram tomados 0,5ml da refeição de prova e 2ml do volume total recuperado e transferido, em duplicata, para balões volumétricos distintos de 10ml. Foram adicionados 5ml de solução de fosfato trissódico na concentração de 27,5 mgr/ml em cada balão e o volume completado com água destilada até 10ml.As medidas foram feitas em espectrofotômetro com comprimento de onda de 560nm.

A fórmula utilizada pra o cálculo da retenção gástrica foi a seguinte:

$$RG = \frac{\text{Vol. R.G.} \times \text{doR.G.} \times 100}{\text{Vol. R.p.} \times \text{dop} \times 4}$$

Vol.RG:Volume do Resíduo Gástrico

Vol.R.p:Volume da Refeição de Prova

doR.G:Leitura colorimétrica do resíduo gástrico

dop:Leitura colorimétrica da refeição de prova

## **6-PESAGEM CEREBRAL E ESTUDO HISTOLÓGICO**

Após a recuperação do resíduo gástrico os animais foram submetidos à perfusão cerebral com formalina tamponada, os cérebros foram retirados da caixa craniana e pesados em balança de alta precisão.

Os cérebros foram mantidos por 72 horas em formalina tamponada e encaminhados para cortes histológicos com coloração de hematoxilina-eosina.

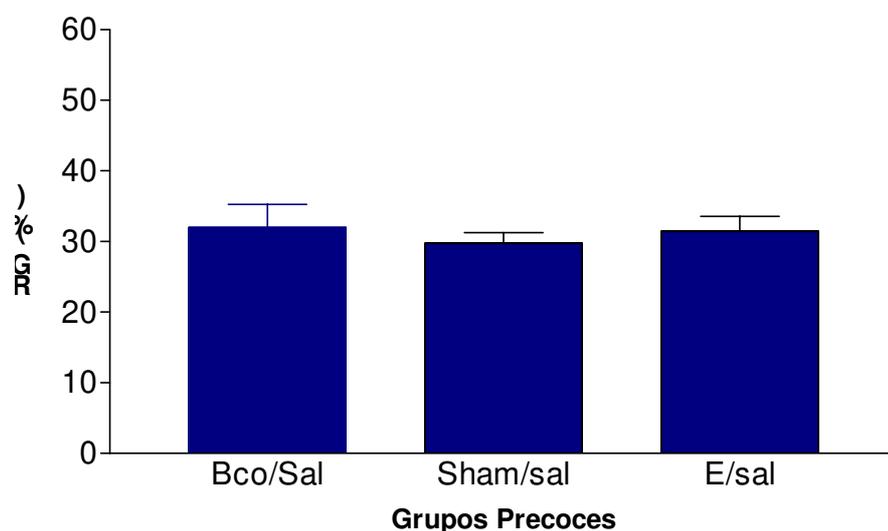
## **7-MÉTODO ESTATÍSTICO**

Os valores encontrados, taxa de retenção gástrica e peso cerebral, foram submetidos a análise estatística pelo teste Anova.

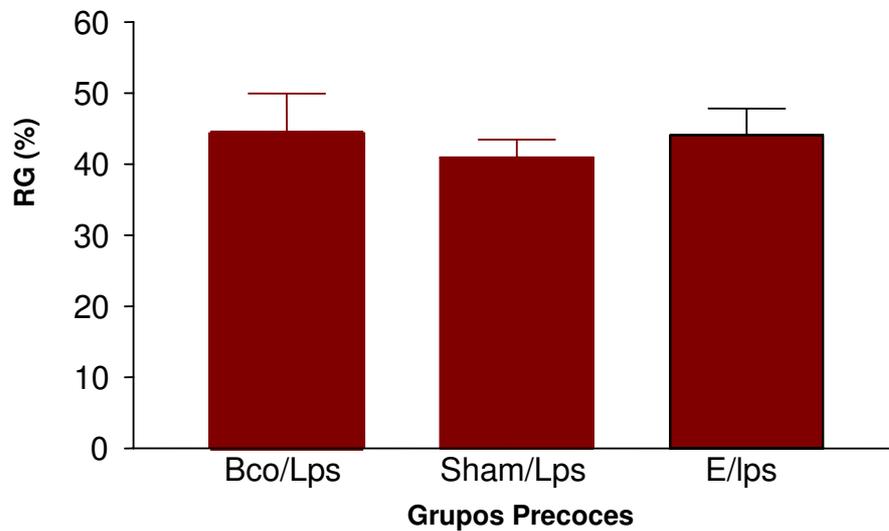
## ***4- RESULTADOS***

Após a cirurgia e o período de hipóxia, os animais apresentavam-se com ptose palpebral à esquerda e, em 6 animais alteração da marcha com discreta lateralização. Quatro animais morreram durante a hipóxia e três apresentaram convulsões após término da mesma, sendo sacrificados através de aprofundamento anestésico.

Os valores de retenção gástrica foram semelhantes entre os animais avaliados no período precoce. A média da taxa de retenção gástrica foi de 31,48% no grupo experimento, 30,08% no grupo sham e de 32,58% no grupo branco. A administração endovenosa de LPS de *E. coli* provocou retardo no EG de forma semelhante nos três subgrupos, sendo de 44,71%, 41,42% e 44,94% respectivamente, como mostra as figuras 10 e 11. A análise estatística ( teste Anova ) não mostrou diferença significativa ( $p > 0,05$  ).

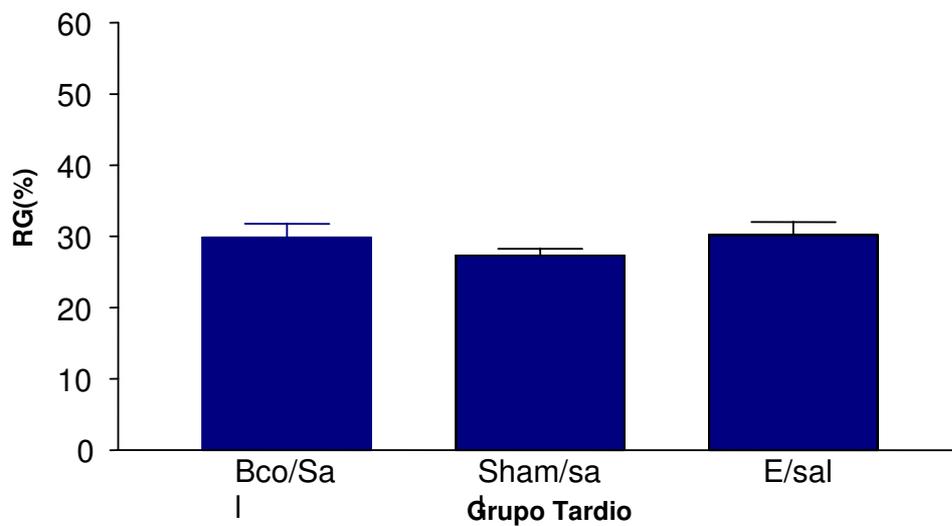


**Figura 10**-Representação gráfica da média da Taxa de Retenção Gástrica(RG%) nos animais do Grupo Precoce submetidos a administração endovenosa de solução salina.

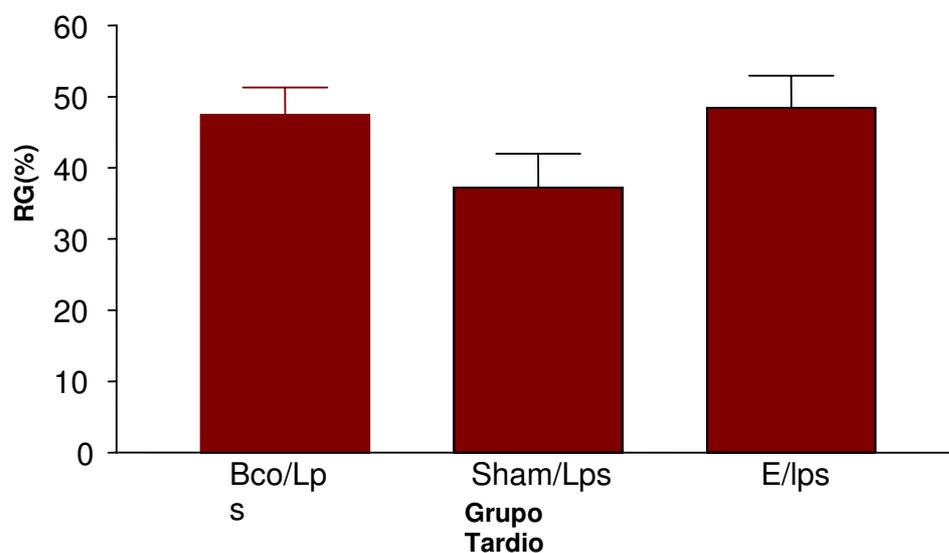


**Figura 11-**Representação gráfica da média da Taxa de Retenção Gástrica(RG%) nos animais do Grupo Precoce submetidos a administração endovenosa de solução de LPS de *E. coli*.

Na avaliação do período tardio (14 dias), a média da taxa de retenção gástrica foi de 27,12% (experimento), 27,75% (sham) e 30,41% (branco). A administração endovenosa de LPS de *E. coli* provocou retardo no EG de forma semelhante nos três subgrupo, sendo de 50,06%, 43,51% e 42,85, respectivamente. Os dados estão dispostos nas figuras 12 e 13. Após aplicação do teste estatístico Anova, não observado diferença estatisticamente significativa ( $p > 0.05$ ).

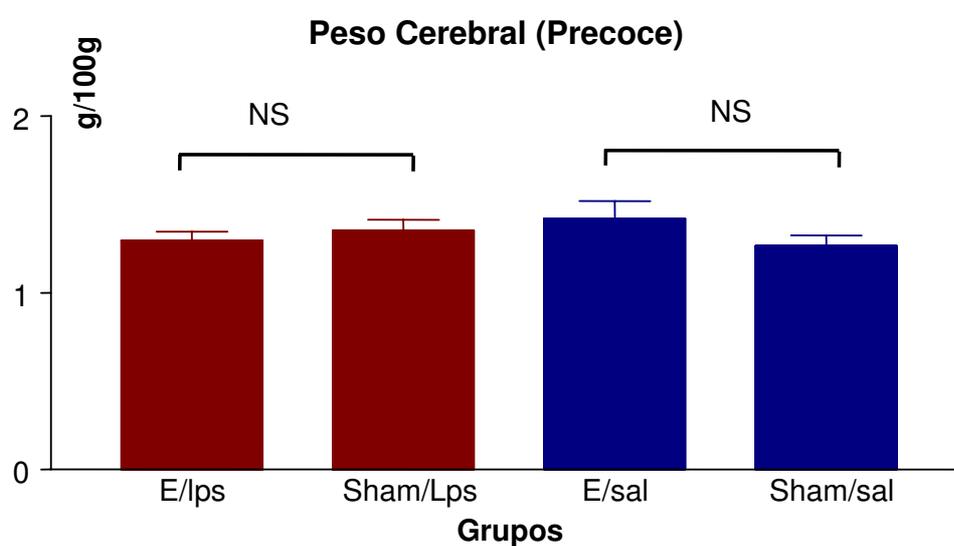


**Figura 12-**Representação gráfica da média da Taxa de Retenção Gástrica(RG%) nos animais do Grupo Tardio, submetidos a administração endovenosa de solução salina.

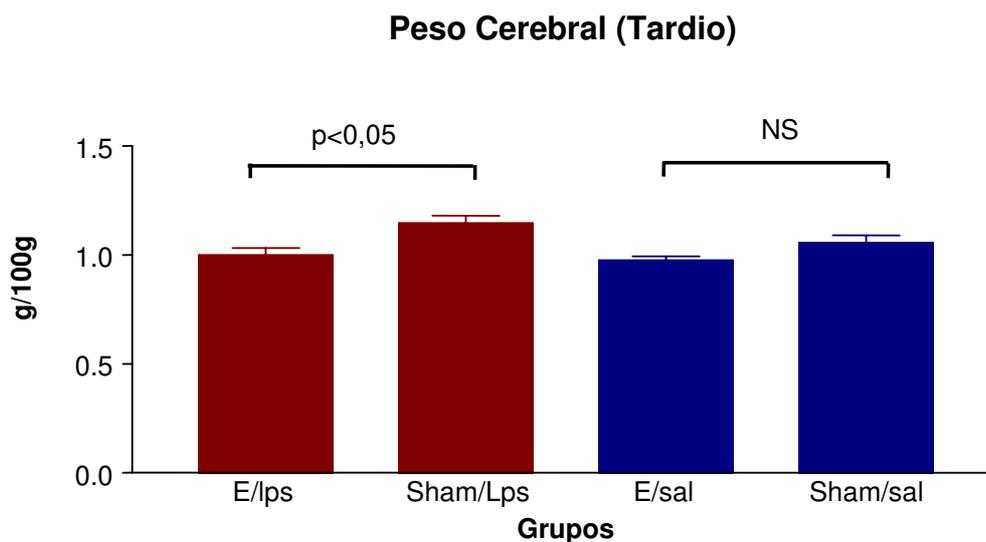


**Figura 13-**Representação gráfica da média da Taxa de Retenção Gástrica (RG%) dos subgrupos do grupo tardio ( 14 dias), submetidos a administração endovenosa de solução de LPS de *E.coli*.

Após a perfusão cerebral com formalina tamponada o cérebro dos animais dos subgrupos experimento e sham foram retirados e pesados em balança de alta precisão. A média do peso cerebral/ 100gr do peso do animal foi de 1,30228 – sham e 1,32431 – experimento no período precoce ( figura 14). Nos animais do grupo tardio os valores encontrados foram de 1,100080 – sham e 0,98738 – experimento. A avaliação estatística (teste Anova) demonstrou diferença significativa na diminuição do valor do peso cerebral dos animais do grupo tardio submetidos à lesão neurológica, como mostra a figura 15.



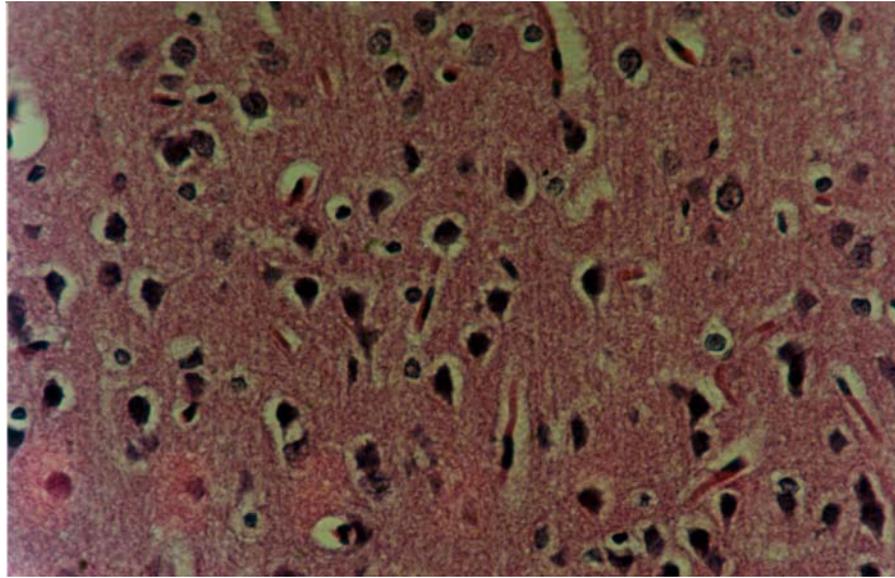
**Figura 14**-Representação gráfica da média do peso cerebral /100g do peso do animal dos animais do Grupo Precoce.



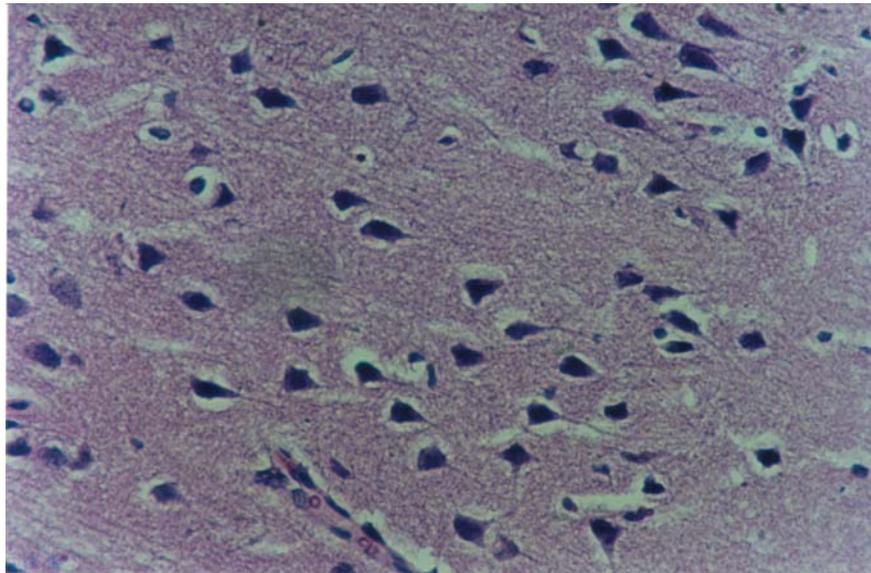
**Figura 15**-Representação gráfica da média do peso cerebral/100g do animal dos animais do Grupo Tardio. Observado redução do peso cerebral dos animais do subgrupo Tardio-Experimento- LPS (TLS), estatisticamente significativa em relação ao subgrupo Sham.

O estudo histológico do cérebro dos animais submetidos à lesão hipóxico-isquêmica demonstrou alterações neuronais difusas em córtex, hipocampo e núcleos da base. A coloração utilizada foi hematoxilina-eosina. As células neuronais apresentavam-se com formato alongado em forma de losângulo, com vacuolização e retração do citoplasma, basofilia do citoplasma, hipercromasia do núcleo (picnose) e desaparecimento do nucléolo.

Nos cortes histológicos do cérebro dos animais do grupo precoce submetidos à lesão hipóxico-isquêmica observado um aumento da celularidade (neurônios alterados, oligodendrócitos, glias) e pequenas áreas de infarto em dez animais (Figura 16). Comparativamente, os cortes histológicos dos animais do grupo tardio mostravam uma diminuição da celularidade, com neurônios alterados e aumento do neuropilo, sugerindo áreas de regeneração celular ( Figura 17).

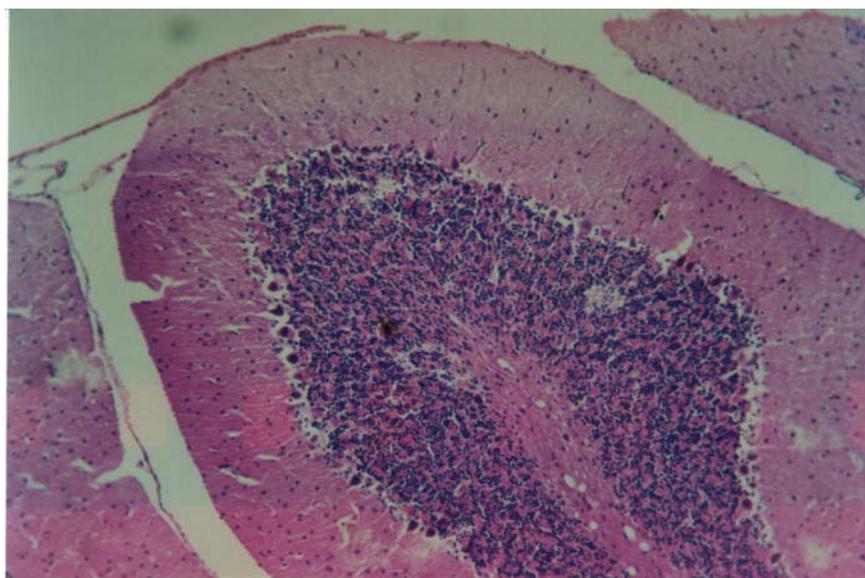


**Figuras 16-**Corte histológico do córtex cerebral dos animais do grupo precoce submetidos à lesão neurológica hipóxico-isquêmica. Coloração H.E.



**Figura 17-**Corte histológico do córtex cerebral de um animal do grupo tardio submetido à lesão neurológica hipóxico-isquêmica. Coloração H.E.

Os cortes histológicos do cerebelo mostraram alterações das células de Purkinje semelhantes aos neurônios, com citoplasma basófilico e picnose do núcleo (Figura 18).



**Figura 18**-Corte histológico da lamínula cerebelar de animal submetido a lesão-neurológica hipóxico-isquêmica.

Nos animais do grupo Sham e branco os cérebros apresentavam com características normais. Dois animais do grupo Sham apresentaram áreas esparsas de alteração neuronal em córtex, sugerindo hipóxia. Estes animais foram excluídos do trabalho.

## *5- DISCUSSÃO*

O potencial de desenvolvimento de uma criança com dano neurológico é difícil de prever. A desnutrição representa um problema freqüente, que pode ser resultado da baixa ingestão oral decorrente da impossibilidade de deglutição, da disfagia ou da associação com a DRGE. As sondas nasoenterais podem trazer grandes benefícios, porém devem ser temporárias devido aos seus problemas (STRINGEL et al.,1989; WHEATLEY et al.,1991; SPITZ et al.,1993).

As manifestações GI como disfagia, distúrbio de deglutição, vômitos, regurgitação e constipação intestinal são comuns nestes pacientes (GUSTAFSSON & TIBBLING,1994; RAVELLI & MILLA,1998; DEL GIUDICE,1999), acarretando déficit de crescimento e aumento da morbidade. A aerofagia e constipação intestinal habitual nestes pacientes resulta no aumento constante da pressão intraabdominal, piorando a recorrência dos vômitos, do RGE e esofagite (WESLEY et al., 1981; CORAZZINI, 1997; DEL GIUDICE et al.,1999).

Os problemas pulmonares crônicos resultam em repetidas internações hospitalares e podem causar falência pulmonar. A aspiração pulmonar secundária ao RGE, regurgitação e vômitos recorrentes é uma complicação freqüente nestes pacientes (PEARL et al.,1990; STAIANO et al.,1991; DEL GIUDICE et al.,1999) e muitas vezes, fatais.

Crises convulsivas são mais freqüentes em pacientes neuropatas e são de difícil controle devido à dificuldade de administração oral dos medicamentos e da perda destes causada pelo RGE e vômitos, acarretando assim piora da espasticidade e da contratura muscular com aumento da pressão intraabdominal (JOLLEY et al.,1987; SPITZ et al.,1993).

As deformidades músculo-esqueléticas severas e escoliose são freqüentes nas crianças neuropatas e geralmente não são corrigidas cirurgicamente devido às condições clínicas destas crianças. Estas deformidades acarretam alterações do posicionamento do esôfago distal e do pinçamento diafragmático, modificando a posição e pressão do EIE e propiciando o RGE (WESLEY et al.,1981; STRINGEL et al.,1989; GUSTAFSSON & TIBBLING,1994; RAVELLI e MILLA, 1998).

As crianças neuropatas requerem vários cuidados de alimentação, higiene e medicação a nível domiciliar. A necessidade de cuidados específicos, a dificuldade econômica e de locomoção, as freqüentes internações por pneumonias aspirativas,

desnutrição e anemia severa; associado ao sofrimento ou desinformação de seus familiares ou responsáveis legais, torna este grupo de crianças difícil de ser avaliado. Esta dificuldade ocorre também pelo medo do sofrimento ou dor que a criança possa apresentar durante os exames e, muitas vezes, pela negligência de seus responsáveis. Além disto, a dificuldade de um estudo mais profundo e detalhado do SNC destas crianças torna difícil a compreensão das causas de todos estes problemas.

Um conjunto de fatores contribuem para o aumento da incidência das manifestações gastrointestinais nas crianças com dano neurológico (RICE et al.,1991; SPITZ et al., 1993). A pressão do EIE reduzida, a presença de esofagite, a dismotilidade esofagiana e alteração do clearance esofágico, a dismotilidade gastrointestinal e distúrbio do EG, a constipação intestinal, a espasticidade abdominal e o decúbito horizontal prolongado são fatores que potencializam as manifestações GI. Portanto, quando estudamos o RGE em neuropatas ou, quando tentamos associá-lo como a causa dos vômitos recorrentes, das pneumonias aspirativas e da anemia severa temos que avaliar uma gama de fatores que podem agravar ou perpetuar os sintomas após tratamento o clínico ou cirúrgico.

A presença de dismotilidade do trato gastrointestinal em crianças neuropatas tem sido relatada em vários estudos (HALPERN et al.,1991; RAVELLI & MILLA,1998; HEIKENEN et al.,1999; STAIANO et al.,1999). É desconhecido como o sistema nervoso entérico pode ser modulado pelo SNC e como alterações ou danos (hipóxia, isquemia, infecção, trauma) ao SNC podem resultar em alteração da motilidade gastrointestinal. MIKI et al. (1998) demonstraram que pacientes com dano neurológico severo apresentam alta incidência de disfunção motora antroduodenal durante o jejum. Estas alterações podem ser secundárias ao estado de hipotrofismo, ao uso de drogas anticonvulsivantes e/ou miorelaxantes ou as próprias lesões do SNC. As lesões cerebrais difusas podem interromper a modulação neural da motilidade GI, alterando o fluxo de informações do córtex para centros inferiores. Neste estudo, os autores concluem que a hipomotilidade antral e a incoordenação antroduodenal podem contribuir para a intolerância alimentar e vômitos, agravar o RGE, a desnutrição e a morbidade destas crianças.

RAVELLI & MILLA, em 1998, também observaram um grande número de crianças com severo atraso do desenvolvimento neuropsicomotor com quadro de vômitos recorrentes e constipação intestinal, sugerindo uma disfunção panentérica (ou global trato

gastrointestinal) nestes pacientes. O controle da função motora do trato gastrointestinal superior envolve fatores muscular, neural (intrínseco e extrínseco) e hormonal. Em pacientes com lesão do SNC acredita-se que, pelo menos, a inervação intrínseca é anormal, com disritmias gástricas antrais resultante de ativações anormais do reflexo emético ou de ausência da inibição das fibras excitatórias decorrente de lesões dos centros cerebrais superiores (“centro do vômito” e área postrema). Disritmias antrais podem ocorrer após lesões cerebrais hipóxico-isquêmica, devido à hemorragia intraventricular, dilatação ventricular e atrofia periventricular, que podem interferir na regulação central do reflexo do vômito e do esfíncter inferior do esôfago. Os autores concluem que os vômitos recorrentes e a alta incidência de DRGE nos neuropatas é decorrente das alterações da motilidade gastrointestinal, como, disritmias gástrica, retarde do EG e disfunção do EIE.

Neste estudo, promovemos uma lesão neurológica hipóxica-isquêmica em ratos obedecendo aos critérios da Comissão de Ética. Estes animais apresentavam condições para a sobrevivência (alimentação, deambulação, proteção) e ausência de sofrimento (convulsões, paralisias) após o experimento. Não houve alteração significativa no estudo do EG nos animais submetidos à lesão neurológica comparados aos animais do grupo Controle e Sham. O uso da solução de LPS de *E. coli* provocou alteração semelhante do EG em todos os grupos estudados. A administração endovenosa, através de punção venosa caudal, de lipopolissacarídeos de *E. coli* em metade dos animais de cada grupo e solução salina nos animais restante teve a finalidade de promover uma situação de sensibilização do animal (quadro infeccioso) e observar as alterações no EG, principalmente nos animais submetidos à lesão neurológica. COLLARES (1997) mostrou que doses subletais de LPS de *E.coli* suprime a motilidade gástrica e inibe o EG de líquidos em ratos. Foi utilizado a dose de 50 ugr/kg de peso do animal e administrado 1 hora antes do estudo do EG.

Embora não tenhamos observado alterações do EG nos animais submetidos à lesão neurológica hipóxica-isquêmica, muitas dúvidas persistem. O dano neurológico provocado nestes animais foi insuficiente para provocar alterações da motilidade gástrica e do EG? Observamos alteração neuronal difusa do córtex cerebral e em alguns animais áreas de infarto, porém sem alterações ventriculares( hemorragia, dilatação ou atrofia). O modelo experimental de lesão neurológica hipóxia-isquêmica utilizado neste trabalho, foi descrito por RICE et al. em 1980, e mostrou ser um modelo seguro, com incidência de

lesão neurológica em 90% dos animais e baixo índice de complicações(mortalidade, convulsões e alterações cardiopulmonares). Este modelo tem sido utilizado em vários estudos na área de neurologia e neurociências (VANNUCCI et al.,1995; PALMER et al.,1995 a /b). Por outro lado, surge a dúvida se o tempo utilizado, 3 e 14 dias após lesão neurológica , foi insuficiente para provocar alterações na motilidade GI? Observamos no grupo experimento tardio(TEL) uma redução significativa do peso cerebral em relação ao grupo Sham(TSL), sugerindo uma atrofia cerebral. Talvez o tempo mais prolongado de observação poderá provocar uma atrofia cerebral mais acentuada e, portanto, promover alterações TGI mais evidentes.

O uso de drogas anticonvulsivantes é outro fator que pode estar relacionado às alterações do EG e alterações difusas da motilidade gastrointestinal. Novas perguntas surgiram através de nosso estudo: a espasticidade muscular, a elevada pressão intra-abdominal e o decúbito horizontal prolongado são os principais fatores responsáveis pelas alterações gastrointestinais e RGE mais severo nestas crianças? A lesão neurológica provocada nos animais não alterou o EG de líquidos, mas poderá alterar o esvaziamento de alimentos sólidos. Nosso estudo criou estas perguntas que tentaremos responder através de novos estudos experimentais.

As alterações do EG em pacientes neuropatas, foram observadas em vários estudos (PAPAILA et al.,1989; MAXSON et al.,1994; PEARL,1990; RAVELLI, 1997; ALEXANDER et al.,1997 ), o que expandiu entre os cirurgiões pediátricos a associação da piloroplastia aos procedimentos antirefluxo destas crianças com o intuito de reduzir os altos índices de complicações observadas como migração da válvula antirefluxo para cavidade torácica, deiscência da funduplicatura, o extravasamento de secreção gástrica peri-gastrostomia e Síndrome de Gás-bloat (CAMPBELL et al.,1989; PEARL et al.,1990; RICE et al.,1991; SMITH et al.,1992). A literatura mundial acredita que crianças neuropatas com DRGE representam uma entidade especial (SONDHEMEIER et al., 1979; SPITZ et al.,1993; SULLIVAN,1997 ), pois vários fatores estão envolvidos na sua etiopatogenia o que torna o seu tratamento mais difícil e com maior número de complicações em relação as demais crianças (STRINGEL et al., 1989; STAIANO et al.,1991; MARTINEZ et al.,1992 a/b ; SPITZ et al.,1993; ALEXANDER et al.,1997).

Acredita-se que as crianças neuropatas se beneficiam com o tratamento cirúrgico, fundoplicatura associada a gastrostomia do ponto de vista nutricional, devido a facilidade de manipulação da sonda ou botão de gastrostomia pelos familiares, e diminuindo os episódios de convulsões e pneumonias aspirativas, porém inúmeras complicações podem ocorrer (WESLEY et al., 1981; SMITH et al.,1992; SPITZ et al.,1993; DEL GIUDICE,1997).

O índice de complicações pós fundoplicatura em neuropatas é bastante elevado em comparação às crianças neurologicamente normais, sendo cerca de 30 a 40% dos casos. Estas complicações incluem pneumonias, *dumping*, diarréia, síndrome *gas-bloat*, aderências intestinais, morte súbita, abscessos, hérnia incisional, hérnia hiatal, deiscência da fundoplicatura, entre outras (PEARL et al.,1990; RICE et al., 1991; WHEATLEY et al., 1991; SMITH et al., 1992; DALLA VECCHIA et al.,1997). DALLA VECCHIA et als (1997) mostraram numa experiência de 130 casos de reoperação após fundoplicatura à Nissen, que 78% destes pacientes apresentavam comprometimento neurológico. Outros estudos como de WHEATLEY et al.(1991) e RAMACHANDRAN et al.(1996), mostraram suas experiências com reoperação após fundoplicaturas e suas complicações, com predomínio nos pacientes neuropatas.

Na dificuldade de estabelecer um tratamento adequado às crianças neuropatas com RGE e o elevado índice de complicações peri e pós operatórias, outros procedimentos cirúrgicos são propostos como a piloroplastia ou a antroplastia associada a fundoplicatura e gastrostomia (MADDERN et al,1985; FONKALSRUD et al.,1989; PAPAILA et al,1989;), a fixação do fundo gástrico ao diafragma e a desconexão esofagogástrica (BIANCHI A,1997; DANIELSON & EMMENS,1999). Recentemente, nos casos mais severos com pneumonias aspirativas intratáveis, a separação laringotraqueal (TAKAMIZAWA et al., 2003).

O porquê e como as lesões do SNC podem alterar a motilidade gastrointestinal nos pacientes neuropatas ainda são desconhecidos. Acreditamos que as lesões cerebrais difusas podem alterar a modulação neural da motilidade gastrointestinal, interrompendo ou alternando o fluxo de informações do córtex cerebral para centros inferiores. A razão da grande variedade de sintomas e a sua severidade, associada ou não ao grau do dano

neuroológico, é uma dúvida constante e que nos preocupa na tentativa de indicar o melhor tratamento. O tratamento proposto para estas crianças muitas vezes é empírico e baseado na experiência de outros autores. Portanto, o conhecimento e o entendimento das alterações da motilidade gastrointestinal tornam-se cada dia mais necessários para que possamos dar a estas crianças o melhor tratamento.

Todos estes estudos nos fazem acreditar que crianças neuropatas merecem uma atenção especial na avaliação e estudo da motilidade gastrointestinal antes da definição das causas dos vômitos recorrentes e suas complicações, assim como, na programação do tratamento clínico ou cirúrgico e nos cuidados pós-operatórios.

## ***6- CONCLUSÕES***

O EG de líquidos em ratos com lesão neurológica hipóxico-isquêmica, comprovada pelo estudo histológico, não apresentou alteração tanto no período precoce como no tardio.

A administração endovenosa de solução de LPS de *E. coli* provocou retardo do EG de líquidos de forma semelhante em todos os animais.

***7- REFERÊNCIAS  
BIBLIOGRÁFICAS***

ABRAHAMAS, P.; BURKITT, B.F.E. Hiatus hernia and gastro-oesophageal reflux in children and adolescents with cerebral palsy. **Aust Pediatr J** 6:41-6, 1970.

ALEXANDER, F.; WYLLIE, R.; JIROUSEK, K.; SECIC, M. & PORVASNIK, S. Delayed Gastric Emptying Affects Outcome of Nissen Fundoplication in Neurologically Impaired Children. **Surg** 122(4):690-698,1997.

BEHAR, J. & RAMSBSY, Y.G. Gastric emptying and antral motility yn reflux esophagitis. Effect of oral metoclopramide. **Gastroenterology**, 74:253-6, 1978.

BELANGERO, VMS; COLLARES EF. Esvaziamento Gástrico e a Acidose metabólica. I. Estudo de um modelo experimental em ratos, empregando uma solução de cloreto de amônio por via orogástrica. **Arq Gastroenterol São Paulo** 28(4):145-150,1991.

BIANCHI, A. Total esophagogastric dissociation: an alternative approach. **J Pediatr Surg** 32(9):1291-1294,1997.

BÖHMER, C.J.M.; BOER, M.L.; KNOL, E.C.K. The prevalence of GER disease in institutionalized intellectually disabled children individuals. **Am J Gastroenterol** 94: 804-810, 1999.

BOYLE, J.T. Gastroesophageal Reflux in the Pediatric Patient. **Gastroenterol Clin North Am** 18(2):315-337,1989

BRAY, P.F.; HEBERST, J.J.; JOHNSON, D.G.; BOOK, L.S.; ZITER, F.A.; CONDON, V.R. Childhood Gastroesophageal Reflux – Neurologic an Psychiatric Syndromes Mimicked. **JAMA** 28 (237):1342-1345,1977.

BROWN, r.A.; WYNCHANK, S.; RODE, H. Delayed gastric emptying in neurologically impaired children with GER disease: the role of pyloroplasty. **J Pediatr Surg** 29:729-39,1994.

BURKS, T.F.; GALLIGAN, J.J.; PORRECA, F. & BARBER, W.D. Regulation of gastric emptying . **Federation Proc.**, 44:2897-2901,1985.

BUSTORFF-SILVA, J.M.; FONKALSRUD, E.W.; PEREZ, C.A.; QUINTERO, R.; MARTIN, L.; VILLASENOR, E.; ATKINSON, J.B. Gastric Emptying Procedures Decrease the Risk of Postoperative Recurrent Reflux in Children with delayed gastric Emptying. **J Pediatr Surg** 34(1):79-83,1999.

BUSTORFF-SILVA, J.M.; RISSATO DE OLIVEIRA, E.; COLLARES, E.F.; LEONARDI, L.S. Effect of fundplication on the gastric emptying of liquids. **J Pediatr Surg**, 30:781-85,1995.

CALATAYUD, S.; BARRACNINA, M.D.; GARCIA-ZARAGOZA, E.; QUINTANA, E.; ESPLUGUES, J.V. **N S Arch Pharmacol** 363(3): 276-80, 2001.

CAMPBELL, J.R.; GILCHRIST, B.F.; HARRISON, M.W. Pyloroplasty in Association with Fundoplication in Children with Neurologic Disorders. **J Pediatr Surg** 24(4):375-377,1989.

CARLSON, H.C.; CODE, C.F.; NELSON, R.A. Motor action of the canine gastroduodenal junction: cineradiographic, pressure and electric study. **Am J Dig Dis** 11: 155-172,1966.

COLLARES, E.F. Effect of Tolerance to Bacterial Lipopolysaccharides on Gastric Emptying in Rats. **Arq Gastroenterol** 34(3):227-228,1997.

COLLARES, E.F.; SILVA, P.E.M.K. Esvaziamento Gástrico . **Gastroenterologia Pediátrica** , 3 edição, Medsi, 1996.

COLLINS, P.J.; HOROWITZ, M.; CHATTERTON, B.E. Proximal, distal and total stomach emptying of a digestible solid meal in normal subjects.**Br J Radiol** 61: 12-8,1988.

COLLINS, P.J; HOUGHTON, L.A.; READ, N.W.; HOROWITZ, M; CHATTERTON, B.E.; HEDDLE, R.; DENT, J. Role of proximal and distal stomach in mixed solid and liquid meal emptying. **Gut** 32: 615-9, 1991.

COOKE, A.R. Control of gastric emptying and motility. **Gastroenterology**, 68: 804-816, 1975.

CULLEN, J.J.; KELLY, K.A. Gastric motor physiology and pathophysiology. **Surg Clin North Am** 73: 1145- 160, 1993.

CORAZZINI, E. Neuro-Enteric Mechanisms of Gastrointestinal Motor Function. **J Ped Gastroenterol Nutr** 25:S3-S4,1997.

CUNNINGHAM, K.M.; HOROWITZ, M.; RIDDEL, P.S.; MADDERN, G.J; MYERS, J.C.; HOLLOWAY,R.H.; WINSHART, J.M.; JAMIESON, G.G. Relations among Autonomic Nerve Dysfunction, Oesophageal Motility, and gastric Emptying in Gastroesophageal Reflux Disease.**Gut** 32:1436-1440,1991.

DANIELSON, P.D. e EMMENS, R.W. Esophagogastric disconnection for gastroesophageal reflux in children with neurological impairment. **J Pediatr Surg** 34(1):84-87,1999.

DALLA VECCHIA, L.K; GROSFELD, J.L; WEST, K.W.; RESCORLA, F.J.; SCHERE, L.R.; ENGUM, S.A. Reoperation after Nissen fundoplication in children with gastroesophageal reflux. **Ann Surg** 226(30):315-323,1997.

DEL GIUDICE, E.; STAIANNO, A.; CAPANO, G.; ROMANO, A.; FLORIMONTE, L.;MIELE, E.; CIARLA, C.; CAMPANOZZI, A.; CRISANTI. A.F. Gastrointestinal Manifestations in children with Cerebral Palsy. **Brain & Development** 21:307-311,1999.

DEL GIUDICE, E. Cerebral Palsy and Gut Functions. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 25(Suppl):22-23,1997.

EAGON, J.C.; SOPER, N.J. Gastrointestinal pacing. **Surg Clin North Am** 73: 1161-172,1993.

EHRLEIN, H.J. & AKKERMANS, L.M.A . Gastric emptying. In: AKKERMANS, L.M.A; JOHSON, A.G.; READ, N.W. ed . **Gastric and gastroduodenal motility**, New York, v.4, Publisher, 1984. p.74-84. Surgical Science Series.

FONKALSRUD, E.W.; FOGLIA , R.P.; AMENT, M.E; BERQUIST,W.; VARGAS, J. Operative treatment for GER syndrome in children. **J Pediatr Surg** 24: 525-29, 1989.

- GROSS, R.E. The surgery of infancy and childhood. Philadelphia: **Saunders**, 128,1953.
- GUSTAFSSON, P.M.; TIBBLING, L. Gastroesophageal reflux and oesophageal dysfunction in children and adolescents with brain damage. **Acta Paediatr** 83: 1081-85, 1994.
- HALPERN, L.M.; JOLLEY, S.G.; JOHNSON, D.G. Gastroesophageal Reflux: A Significant Association with Central Nervous System Disease in Children. **J Pediatr Surg** 26(2):171-173,1991.
- HASSALL, E. Wrap session: is the Nissen Slipping? Can medical treatment replace surgery for severe gastroesophageal reflux disease in children? **Am J Gastroenterol** 90(8):1212-1220,1995.
- HEIKENEN, J.B.; WERLIN, S.L. & BROWN, C.W. Eletogastrography in gastrostomy-Tube-Fed Children. **Dig Dis Sci** 44(7):1293-1297,1999.
- HILLEMEIER, A.C.; LANGE, R.; McCALLUM, R.; SEASHORE, J.; GRYBOSKI,J.. Delayed Gastric Emptying in Infants with Gastroesophageal Reflux. **J Pediatr** 98(2):190-193,1981.
- HILLEMEIER, A.C.; GRILL, B.B.; McCALLUM, R.; GRYBOSKI,J. Esophageal and Gastric Motor Abnormalities in Gastroesophageal Reflux During Infancy. **Gastroenterol** 84:741-146,1983.
- HOROWITZ, M.; DENT, J.; FRASER, R.; SUN, W.; HEBBARD, G. Role and integration of mechanisms controlling gastric emptying. **Dig Dis Sci**, 39(Suppl): 7-13, 1994.
- HUNT, J.N. Mechanisms and disorders of gastric emptying. **Annu Rev Med** 34: 219-223, 1983.
- HUNT, J.N.; SMITH, J.L.; JIANG, C.L. Effect of meal volume and energy density on the gastric emptying of carbohydrates. **Gastroenterology**, 89: 1326-1330,1985.

HUNT, J.N & STUBBS, D.F. The volume and energydensity contents of meals as determinants of gastric emptying. **J. Physiol**, 245: 209-225,1975.

JEAN, A. Brainstem Organization of the Swallowing Network.**Brain Behav Evol** 25:109-116; 1984.

JESUS, L.E. Refluxo Gastroesofágico em pacientes neuropatas. **Rev Col Bras Cirurgiões** 29(4):226-232,2002.

JOLLEY, S.G.; TUNELL, W.P.; LEONARD, J.C.; HOELZER, D.J.; SMITH, E.I. Gastric Emptying in Children with Gastroesophageal Reflux. The Relationship Symptoms Following antireflux Surgery. **J Pediatr Surg** 22(10):927-930,1987.

JOLLEY, S.G.; HEBERST, J.J.; JOHNSON, D.G. Patterns of Postcibal Gastroesophageal Reflux in Symtomic Infants. **Am J Surg** 138:946-950,1979.

KACKER, V.; MEHTA, V.S; GUPTA,Y.K. Acute intracranial hypertension-induced inhibition of gastric emptying: evaluation in conscious rats. **Eur J Pharmacol** 369:65-72, 1999.

KAO, C.H.; HO, Y.J; CHANGLAI, S.P.; DING, H.J. Gastric emptying in spinal cord injury patients. **Dig Dis Sci** 44(8): 1512-1515,1999.

KELLY, K.A. Gastric emptying of liquids and solids: roles of proximal and distal stomach. **Am J Physiol**, 239:G71-G79, 1980.

KUBAN, K.C.K. & LEVITON, A. Cerebral palsy. **NEJM** 330: 188-95, 1994.

LEVINE, S. Anoxic-Ischemic Encephalopathy in Rats. **Am J Pathol** 36(1):1-14,1960.

MADDERN, G.J.; JAMIESON, G.G.; CHATTERTON,B.E. Is there an association between failed anti-reflux procedures and delayed gastric emptying? **Ann Surg** 202: 162-165,1985.

MARTINEZ, D.A.; GINN-PEASE, M.E.; CANIANO, D.A. Sequelae of Antireflux Surgery in Profoundly Disabled Children. **J Pediatr Surg** 27(2):267-273,1992.

MARTINEZ, D.A.; GINN-PEASE, M.E.; CANIANO, D.A. Recognition of Recurrent Gastroesophageal Reflux Following Antireflux Surgery in the Neurologically Disabled Child: High Index of Suspicion and Definitive Evaluation. **J Pediatr Surg** 27(8):983-990,1992.

MAXSON, R.T., HARP, S.; JACKSON, R.J.; SMITH, S.D.; WAGER, C.W. Delayed Gastric Emptying in Neurologically Impaired Children with Gastroesophageal Reflux: The Role of Pyloroplasty. **J Pediatr Surg** 29(6):726-729,1994.

McCALLUM, R.W. Gastric Emptying in Gastroesophageal Reflux and the Therapeutic Role of Prokinetic Agents. **Gastroenterol Clin North Am** 19(3):551-565,1990.

MEYER, J.H. Gastric emptying of ordinary food –effect of antrum particle size. **Am J Physiol** 239 G133-35, 1980.

MIKI K; HARADA T; KOZAIWA K; TARIJI H; NAGAI T; KAWAHARA H; OKADA A. Antroduodenal Motor Function and Gastroesophageal Reflux in Neurologically Impaired Children, adolescents and young adults. **Eur J Pediatr** 157:695-698,1998.

MINAMI, H. & McCALLUM, R.W. The physiology and pathophysiology of gastric emptying in humans. **Gastroenterology** 86: 1592-1610, 1984.

MORGAN, K.G.; SCHMALZ, P.F.; GO, V.L.W; SZUSZEWSKI, J.H. Effect of pentagastrin, G17 and G34 on the electrical and mechanical activities of canine antral smooth muscle. **Gastroenterology** 75:304-312 1978.

NEUHAUSER, E.B.D;BERENBERG, W. Cardio-esophageal relaxation(chalasia) as a cause of vomiting in infants. **Radiology** 48:480-3,1947.

PALMER C.; ROBERTS R.L. ; YOUNG P.I. Neutropenia before but not after hypoxia-ischemia reduces brain injury in neonatal rats. **J Cerebr Blood Flow Metab** 15:S291,1995.

PALMER C.; HUDOME S.M.; ROBERTS R.L.; HOUSMAN C., TOWFIGHI T. The combination of allopurinol with neutropenia in reduction of hypoxic-ischemic brain injury in the newborn rat. **J Cerebr Blod Flow Metab** 15:S293,1995.

PAPAILA, J.G.; WILMOT, D.; GROSFELD, J.L.; RESCORLA, F.J; WEST, K.W.;VANE,D.W. Increased Incidence of Delayed gastric Emptying in Children with gastroesophageal Reflux. **Arch Surg** 124:933-936,1989.

PEARL R.H., ROBIE D.K., EIN S.H., SHANDLING B., WESSON D.E., MCTAGGART K., GARCIA V.F., O'CONNOR J.A., FILLER R.M. Complicatios of Gastroesophageal Antireflux Surgery in Neurologically Impaired Versus Neurologically Normal Children. **J Pediatr Surg** 25(11):1169-1173,1990.

RAMACHANDRAN, V.; ASHCRAFT, K.W.; SHARP, R.J.; MURPHY, P.J.; SNYDER, C.L.; GITTES, G.K.; BICKLER, S.W. Thal fundoplication in neurologically impaired children. **J Pediatr Surg** 31 (6): 819-822, 1996.

RAVELLI AM. Diagnostic and Therapeutic Approach to Vomiting and Gastroparesis in Children with Neurological and Neuromuscular Handicap. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 25(Suppl):34-36,1997.

RAVELLI AM, MILLA PJ. Vomiting and Gastroesophageal Motor Activity in Children with Disorders of Central Nervous System. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 26:56-63, 1998.

REILLY, S.; SKUSE, D. & POBLETE, X. Prevalence of feeding problems and oral motor dysfunction in children with cerebral palsy: A community survey. **J Pediatr** 129(6):877-882,1996.

RICE, H.; SEASHORE, J.H.; TOULOUKLAN, R.J.. Evaluation of Nissen Fundoplication in Neurologically Impaired children. **J Pediatr Surg** 26(6):697-701,1991.

RICE, JE; VANUCCI, RC & BRIERLEY, JB. The Influence of Immaturity on Hipoxic-Ischemic brain damage in the Rat. **Ann Neurol** 9(2):131-141,1980.

ROSENBLOOM, L. Diagnosis and Management of cerebral palsy. **Arch Dis Child** 72 : 350-354,1995.

SCHWIZER, W.; HINDER, R.A.; DeMEESTER, T.R. Does delayed gastric emptying contribute to gastroesophageal reflux disease? **Am J Surg** 157: 74-81, 1989.

SMITH, C.D.; OTHERSEN, H.B.; GOGAN, N.J.; WALKER, J.D. Nissen Fundoplication in Children with Profound Neurologic Disability. **Ann Surg** 215(6):654-659,1992.

SONDHEMEIER, J.M.; MORRIS,B.A. Gastroesophageal Reflux Among Severely Retarded Children. **J Pediatr** 94(5):710-714,1979.

SPITZ, L.; ROTH, K.; KIELY, E.M.; BRERETON, R.J.; DRAKE, D.P.; MILLA,P.J. Operation for gastro-oesophageal reflux associated with severe mental retardation. **Arch Dis Child**, 68:347-351,1993.

STAIANO, A.; CUCCHIARA, S.; DEL GIUDICE, E.; ANDREOTTI, M.R. & MINELLA, R. Disorders of Oesophageal Motility in Children with Psychomotor Retardation and Gastro-oesophageal Reflux. **Eur J Pediatr** 150:638-641,1991.

STRINGEL, G.; DELGADO, M.; GUERTIN. L; COOK, J.D.; MARAVILLA, A. Gastrostomy and Nissen Fundoplication in Neurologically impaired Children. **J Pediatr Surg** 24 (10):1044-48, 1989.

STRUNTZ, U.T. & GROSSMAN, M.I. Effect of intragastric pressure on gastric emptying and secretion . **Am J Physiol** 235: 552-555, 1978.

SULLIVAN P.B. Gastrointestinal problems in neurologically impaired child. **Baill Clin Gastroenterol** 11(3):529-546,1997.

TAKAMIZAWA, S.; TSUGAWA, C.; NISHIJIMA, E.; MURAJI, T.; SATOH, S. Laryngotracheal separation for intractable aspiration pneumonia in neurologically impaired children: experience with 11 cases. **J Pediatr Surg** 38(6):975-7,2003.

VANE, D.W.; SHIFFLER, M.; GROSFELD, J.L.; HALL, P; ANGELIDES, A.; WEBER, T.R; FITZGERALD, J.F. Reduced lower esophageal sphincter (LES) pressure after acute and chronic brain injury. **J Pediatr Surg** 17(6): 960-964;1982.

VANNUCCI, R.C. & VANUCCI, SJ. – A Model of Perinatal Hypoxic-Ischemic Brain Damage. **Ann New York Academy Sciences**, 234-249, 1997.

VANNUCCI S.J.; MAHER F., SIMPSON A.; LEE W.H. Effects of cerebral hypoxic-ischemia on glucose transporter expression in immature rat brain. **J Cerebr Blood Flow Metab** 15:S287,1995.

WEISBRODT, N.W. Normal gastric function. Basic control mechanisms. In: AKKERMANS, L.M.A.; JOHNSON, A.G.; READ, N.W.ed. **Gastric and gastroduodenal motility**, New York, Surgical Sciences Series, v. 4, Publisher,1984.

WHEATLEY M.J.; CORAN A.G.; WESLEY J.R; OLDHAM K.T.; TURNAGE R.H. Redo fundoplication in infants and children with recurrent gastroesophageal reflux. **J Pediatr Surg** 26(7):758-761,1991.

WESLEY, J.R.; CORAN, A.G.; SARAHAN, T.M.; KLEIN, M.D; WHITE, S.J. The need for evaluation of gastroesophageal reflux in damaged children referred for feeding gastrostomy. **J Pediatr Surg** 16(6):866-871,1981.

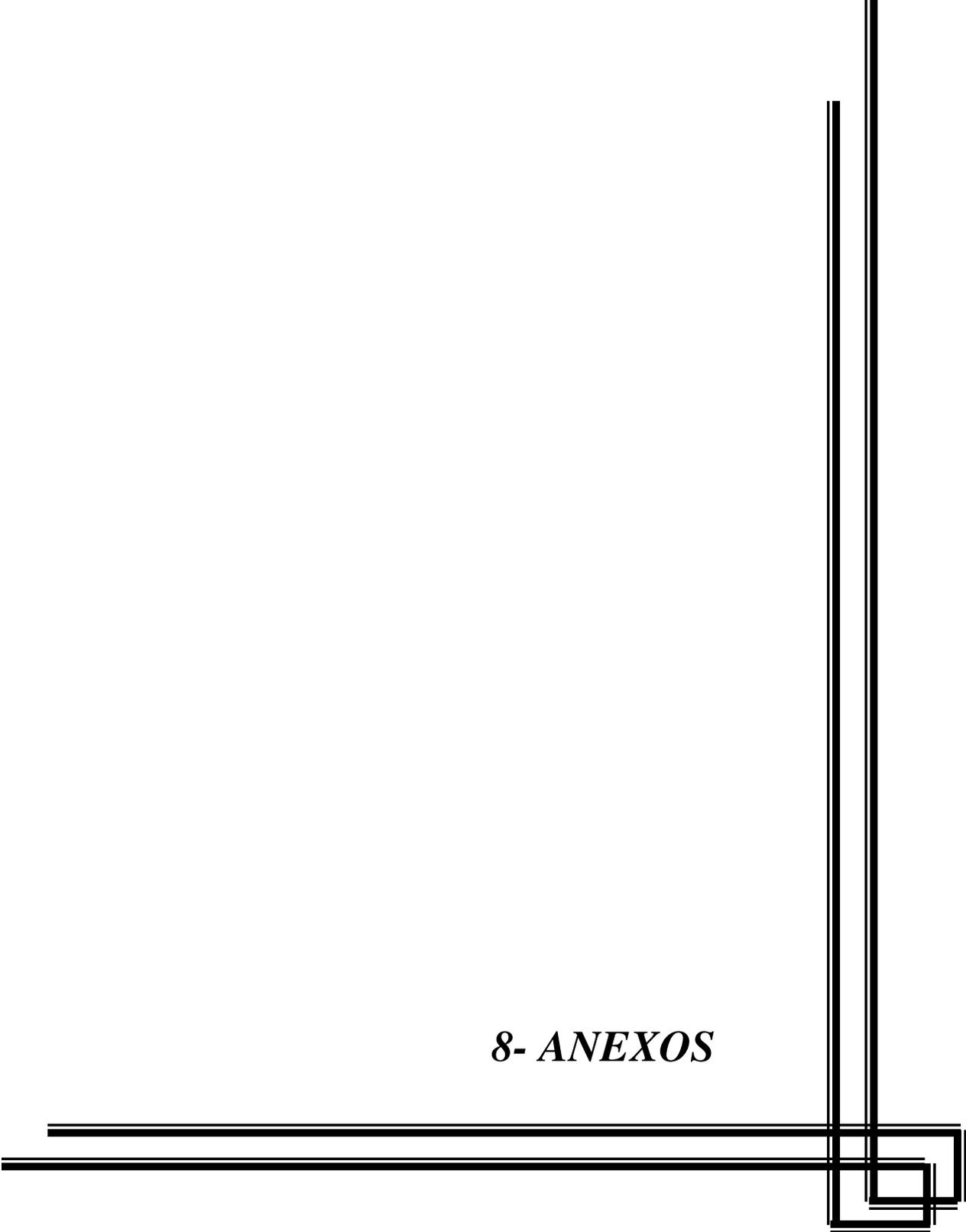
WILBUR, B.G . & KELLY, K.A. Effect of proximal gastric, complete gastric and truncal vagotomy on canine gastric electric activity , motility and emptying. **Ann Surg** 178: 295-303,1973.

WILBUR, B.G. & KELLY, K.A. Gastrin pentapeptide decrease canine gastric transmural pressure. **Gastroenterology** 67: 1139-42, 1974.

WILBUR, B.G.; KELLY, K.A. & CODE , C.F. Effect of gastric fundectomy on canine gastric electric and motor activity. **Am J Physiol** 226:1445-49, 1974.

WINGATE, D.L; STACHER, G. ; KREISS, K.M. Role and integration of mechanisms controlling gastric emptying. **Dig Dis Sci** 39 (12):1205-1235, 1994.

***8- ANEXOS***



Precoce	Grupo	Peso V.	Peso D	Vol. RP	Vol. RG	d.o	d.o. P	RG%	Peso Cer.	P Cer/100g
''99	B/lps	184	160	3,20	18,60	202,00	477,50	61,47	0,00000	0,00000
100	B/lps	195	176	3,60	19,40	197,50	477,50	55,72	0,00000	0,00000
81	B/lps	176	160	3,20	16,40	180,00	499,50	46,17	0,00000	0,00000
113	B/lps	134	120	2,40	16,60	76,00	494,00	26,60	0,00000	0,00000
115	B/lps	123	110	2,20	17,00	74,50	494,00	29,13	0,00000	0,00000
136	B/lps	118	100	2,00	14,20	70,00	486,50	25,54	0,00000	0,00000
139	B/lps	116	93	1,80	14,00	134,50	486,50	53,76	0,00000	0,00000
140	B/lps	130	104	2,00	14,60	163,00	486,50	61,15	0,00000	0,00000
97	B/sal	210	190	3,80	18,00	149,00	477,50	36,95	0,00000	0,00000
98	B/sal	180	161	3,20	21,60	122,00	477,50	43,12	0,00000	0,00000
83	B/sal	170	140	2,80	15,00	120,00	499,50	32,18	0,00000	0,00000
111	B/sal	136	120	2,40	13,00	101,50	494,00	27,82	0,00000	0,00000
112	B/sal	155	135	2,60	17,20	124,00	494,00	41,51	0,00000	0,00000
114	B/sal	124	110	2,20	15,60	68,50	494,00	24,58	0,00000	0,00000
134	B/sal	118	100	2,00	14,80	99,00	486,50	37,65	0,00000	0,00000
138	B/sal	125	100	2,00	13,40	49,00	486,50	16,87	0,00000	0,00000
86	E/lps	192	170	3,40	17,60	167,50	477,50	45,40	1,82590	1,07406
87	E/lps	195	163	3,20	21,20	175,50	477,50	60,87	1,85160	1,13595
90	E/lps	205	181	3,60	19,80	204,00	477,50	58,74	1,90800	1,05414
74	E/lps	160	143	2,80	19,80	122,00	499,50	43,18	1,93000	1,34965
75	E/lps	145	127	2,60	16,60	153,00	499,50	48,89	1,89286	1,49044
76	E/lps	140	125	2,40	19,80	115,50	499,50	47,69	1,84028	1,47222
77	E/lps	144	126	2,60	17,20	91,50	499,50	30,30	1,70527	1,35339
102	E/lps	141	127	2,60	14,00	109,50	494,00	29,84	1,75269	1,38007
104	E/lps	142	126	2,60	15,20	136,00	494,00	40,24	1,76679	1,40221
105	E/lps	147	135	2,60	14,40	98,50	494,00	27,61	1,68512	1,24824
85	E/sal	195	173	3,40	19,40	106,50	477,50	31,82	2,00453	1,15869
88	E/sal	190	166	3,40	20,60	142,50	477,50	45,20	1,85123	1,11520
72	E/sal	150	140	2,80	20,00	98,50	499,50	35,21	1,88500	1,34643
73	E/sal	145	130	2,60	17,20	82,50	499,50	27,32	1,93474	1,48826
101	E/sal	140	130	2,60	13,80	122,00	494,00	32,77	1,76512	1,35778
103	E/sal	149	135	2,60	15,60	114,50	494,00	34,77	1,73580	1,28578
106	E/sal	110	100	2,00	16,00	59,00	494,00	23,89	2,00000	2,00000
126	E/sal	118	100	2,00	15,40	66,50	486,50	26,31	1,60800	1,60800
92	S/lps	192	175	3,40	19,00	120,00	477,50	35,11	1,85300	1,05886
79	S/lps	170	155	3,00	14,80	173,50	499,50	42,84	1,89646	1,22352
107	S/lps	160	140	2,80	17,60	153,00	494,00	48,67	2,00000	1,42857
108	S/lps	143	130	2,60	18,00	126,00	494,00	44,15	1,80707	1,39005
110	S/lps	121	107	2,20	15,80	92,00	494,00	33,44	1,68907	1,57857
127	S/lps	141	116	2,40	14,40	105,00	486,50	32,37	1,47933	1,27528
129	S/lps	130	110	2,20	15,40	144,00	486,50	51,80	1,50627	1,36934
131	S/lps	123	100	2,00	16,20	103,50	486,50	43,08	1,51324	1,51324
91	S/sal	195	170	3,40	18,60	123,00	477,50	35,23	1,80300	1,06059
93	S/sal	190	165	3,20	20,00	102,00	477,50	33,38	1,90124	1,15227
96	S/sal	180	157	3,20	19,40	99,00	477,50	31,42	1,77122	1,12817
78	S/sal	180	155	3,00	17,20	119,50	499,50	34,29	1,88959	1,21909
109	S/sal	155	140	2,80	16,20	86,00	494,00	25,18	1,73152	1,23680
128	S/sal	125	105	2,00	15,60	63,00	486,50	25,25	1,60890	1,53229
130	S/sal	154	124	2,40	13,60	105,50	486,50	30,72	1,63114	1,31544
133	S/sal	122	104	2,00	15,00	65,50	486,50	25,24	1,54882	1,48925

Tardio	Grupo	Peso V.	Peso D	Vol RP	Vol RG	do	do padrão	RG %	Peso Cer.	P Cer./100
29	B/lps	240	220	4,40	19,60	301,50	505,00	66,49	2,06863	0,94029
41	B/lps	180	163	3,20	21,20	133,00	464,50	47,42	1,90620	1,16945
44	B/lps	197	180	3,60	22,20	187,50	464,50	62,23	0,00000	0,00000
55	B/lps	236	210	4,20	21,60	180,00	492,50	46,99	0,00000	0,00000
58	B/lps	230	206	4,20	24,60	154,50	492,50	45,94	0,00000	0,00000
71	B/lps	265	240	4,80	20,00	195,00	476,50	42,63	0,00000	0,00000
120	B/lps	210	187	3,80	17,00	138,00	518,50	29,77	0,00000	0,00000
121	B/lps	230	210	4,20	17,20	271,00	518,50	53,51	0,00000	0,00000
124	B/lps	197	180	3,60	16,00	176,00	518,50	37,72	0,00000	0,00000
30	B/sal	254	226	4,60	19,00	161,00	505,00	32,92	2,13827	0,94614
43	B/sal	200	170	3,40	20,80	895,00	464,50	29,46	1,94415	1,14362
45	B/sal	175	156	3,20	20,80	97,50	464,50	34,11	0,00000	0,00000
56	B/sal	225	200	4,00	19,60	110,50	492,50	27,48	0,00000	0,00000
57	B/sal	230	210	4,20	21,00	164,00	492,50	41,62	0,00000	0,00000
68	B/sal	290	260	5,20	17,20	143,50	476,50	24,90	0,00000	0,00000
70	B/sal	250	225	4,40	19,40	113,00	476,50	26,14	0,00000	0,00000
122	B/sal	205	182	3,60	15,80	158,50	518,50	33,54	0,00000	0,00000
123	B/sal	195	175	3,40	18,40	90,50	518,50	23,61	0,00000	0,00000
12	E/lps	210	190	3,80	17,40	305,00	497,00	70,25	2,03424	1,07065
13	E/lps	205	185	3,60	19,20	233,50	497,00	62,64	1,83504	0,99191
15	E/lps	204	180	3,60	18,20	222,50	497,00	56,58	1,95579	1,08655
20	E/lps	220	190	3,80	18,00	181,00	505,00	42,44	1,93700	1,01947
22	E/lps	210	187	4,00	17,20	187,00	505,00	39,81	2,05290	1,09781
23	E/lps	240	213	4,20	20,00	225,00	505,00	53,04	2,06864	0,97119
31	E/lps	196	176	3,60	18,00	183,50	464,50	49,38	1,83465	1,04241
61	E/lps	260	230	4,60	23,60	96,50	476,50	25,98	1,80799	0,78608
64	E/lps	240	217	4,40	19,00	179,50	476,50	40,67	2,00425	0,92362
11	E/sal	226	200	4,00	16,80	135,50	497,00	28,63	2,11429	1,05715
25	E/sal	240	210	4,20	25,00	119,00	505,00	35,07	1,87135	0,89112
32	E/sal	190	177	3,60	22,00	103,50	464,50	34,04	1,68961	0,95458
33	E/sal	183	170	3,40	19,40	84,00	464,50	25,80	1,75947	1,03498
34	E/sal	193	187	3,80	19,80	73,50	464,50	20,61	1,86489	0,99727
46	E/sal	204	180	3,60	17,60	152,50	492,50	37,85	1,78409	0,99116
47	E/sal	210	186	3,80	19,00	126,50	492,50	32,11	1,77304	0,95325
51	E/sal	210	190	3,80	20,20	123,50	492,50	33,32	1,73172	0,91143
62	E/sal	220	201	4,00	17,20	128,00	476,50	28,88	1,99455	0,99231
26	S/lps	220	195	3,80	19,00	186,50	505,00	46,16	2,17822	1,11704
27	S/lps	235	210	4,20	19,60	220,00	505,00	50,83	2,28766	1,08936
37	S/lps	185	165	3,20	22,20	13,90	464,50	5,19	2,04724	1,24075
39	S/lps	180	150	3,00	22,00	82,00	464,50	32,36	2,02358	1,34905
113	S/lps	220	204	4,00	17,20	213,00	518,50	44,16	2,10986	1,03425
115	S/lps	190	170	3,40	19,60	139,00	518,50	38,64	1,88133	1,10666
117	S/lps	203	180	3,60	18,00	218,50	518,50	52,68	2,05137	1,13965
111	S/lps	230	210	4,20	18,40	142,00	518,50	29,99	2,15137	1,02446
118	S/lps	180	161	3,20	20,80	124,50	518,50	39,02	1,95133	1,21201
16	S/sal	250	220	4,40	20,20	116,50	497,00	26,90	2,26061	1,02755
19	S/sal	235	210	4,20	19,00	139,50	497,00	31,74	2,17607	1,03622
28	S/sal	260	235	4,60	20,80	121,50	505,00	27,20	2,26765	0,96496
40	S/sal	180	160	3,20	18,40	82,00	464,50	25,38	2,03857	1,27411
65	S/sal	217	195	3,80	18,00	107,00	476,50	26,59	1,98522	1,01806
67	S/sal	260	235	4,60	17,20	138,00	476,50	27,07	2,19280	0,93311
112	S/sal	215	193	3,80	17,20	116,50	518,50	25,43	1,98149	1,02668
114	S/sal	215	190	3,80	16,00	130,00	518,50	26,39	1,99465	1,04982
116	S/sal	180	161	3,20	17,80	123,50	518,50	33,12	1,88501	1,17081